

**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE ÁCIDO OLEICO, LINOLEICO,  
LINOLÉNICO Y TRANS-ELAÍDICO EN MARGARINAS, ACEITES Y MAYONESAS  
POR CROMATOGRAFÍA DE GASES**

**TESIS DE GRADO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO  
DE INGENIERA QUÍMICA**

**AUTORA: JENNYFER IVONNE MEDINA MORENO**

**TUTORA: ING. ANA ESTHER MACHADO CAMPOVERDE**

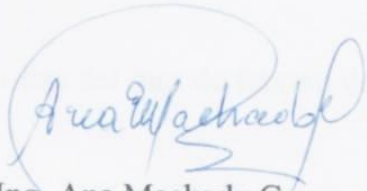
**QUITO**

**2014**

### **APROBACIÓN DEL TUTOR**

En calidad de Tutora de la Tesis de Grado titulada “DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE ÁCIDO OLEICO, LINOLEICO, LINOLÉNICO Y TRANS ELAÍDICO EN MARGARINAS, ACEITES Y MAYONESAS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES”; me permito certificar que la mismo es original y ha sido desarrollado por la Señorita JENNYFER IVONNE MEDINA MORENO bajo mi dirección y conforme a todas las observaciones realizadas, considero que el trabajo reúne los requisitos necesarios.

En la Ciudad de Quito, a los dieciocho días del mes de febrero de 2014



Ing. Ana Machado C.  
PROFESORA TUTORA

## **AUTORIZACIÓN DE LA AUTORIA INTELECTUAL**

Yo, JENNYFER IVONNE MEDINA MORENO en calidad de autora de la tesis de grado realizada sobre DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE ÁCIDO OLEICO, LINOLEICO, LINOLÉNICO Y TRANS ELAÍDICO EN MARGARINAS, ACEITES Y MAYONESAS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES, por la presente autoriza a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o de parte de los que contiene esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor me corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8, 19 y demás pertenecientes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento

En la ciudad de Quito, a los dieciocho días del mes de febrero de 2014



Jennyfer Medina Moreno  
CI: 1719984765  
jenmedina10@hotmail.com

Irina y Ceci esto es para ustedes que confiaron en mi,

Iván y Cecilia, mis padres queridos, les dedico también esta tesis

Gracias por cuidarme y apoyarme.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, que guió mi camino para realizar mis sueños.

Mi querida Universidad Central, donde pase un tiempo maravilloso con amigos, profesores, estudio, donde aprendí más de la vida

Ingeniera Ana Machado, mi tutora, por su apoyo en culminar este trabajo de grado y enseñarme la química orgánica.

Ingeniera Lorena Villarreal, por ayudarme a enfocar mi trabajo de grado, su guía y confianza para desarrollar el método de mi tesis.

Doctor Marco Guijarro, por permitirme trabajar y realizar la experimentación.

A todo el personal del Laboratorio Lasa: Gabriela Cabrera, Patricia Cueva, Carlos Núñez, Diego Artieda, Rodrigo Vaca, Carol Guerrero, Vanesa Rentería, Ivonne Proaño, Leysi Jimenez, José Quevedo y Dr. Klever Parreño, por sus consejos y ayuda en el aprendizaje de nuevos métodos.

A mis amigos queridos en especial: Sandra Villacís, Patricia Valarezo, Andrea Noboa, Liliana Silva, Pamela Toapanta, María Fernanda Núñez y Danny Sinche.

Gracias a Miguel Arias, por apoyarme en toda la carrera universitaria, creer en mí, este trabajo también es tuyo.

A todos los profesores de la Facultad de Ingeniería Química, no solo me enseñaron las materias, también me enseñaron la vida, sus experiencias.

A Juan Zambrano, por enseñarme que aunque haya dificultades siempre hay solución, con fé y paciencia.

A los gatitos Medina-Moreno, como ustedes, el mundo es la fusión del blanco y negro, pero sin duda con un ronroneo es mucho más feliz.

## CONTENIDO

	pág.
<b>LISTA DE TABLA</b> .....	x
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xii
<b>LISTA DE ANEXOS</b> .....	xiv
<b>RESUMEN</b> .....	xv
<b>ABSTRACT</b> .....	xvi
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>1. MARCO TEÓRICO</b> .....	3
1.1 Ácidos Grasos.....	3
1.1.1 Estructura de los ácidos grasos.....	3
1.1.2 Clasificación.....	3
1.1.2.1 Ácidos grasos saturados.....	3
1.1.2.2 Ácidos grasos insaturados.....	4
1.1.2.3 Ácidos grasos cis.....	5
1.1.2.4 Ácidos grasos trans.....	5
1.1.3 Reacciones químicas de los ácidos grasos.....	6
1.1.3.1 Saponificación.....	6
1.1.3.2 Síntesis de ésteres.....	6
1.2 Margarinas.....	7
1.2.1 Hidrogenación y transesterificación de aceites y grasas.....	8
1.3 Aceites.....	9
1.4 Mayonesa.....	9
1.5 Extracción de aceites y grasas en los alimentos.....	10
1.6 Ácidos grasos y salud.....	10
1.6.1 Consumo de grasas y la salud cardiovascular.....	13
1.7 Cromatografía.....	14
1.7.1 Tipos de cromatografía.....	14
1.7.2 Cromatografía en fase gaseosa.....	15
1.7.2.1 Gas portador.....	16

1.7.2.2	<i>Sistemas de inyección de muestra</i>	17
1.7.2.3	<i>Columna y horno de la columna</i>	17
1.7.2.4	<i>Sistemas de detección</i>	17
1.7.2.5	<i>Detector de ionización llama</i>	18
1.7.3	<i>Otros conceptos de cromatografía</i>	18
1.8	<i>Variables para la determinación de ácidos grasos</i>	19
1.8.1	<i>Linealidad</i>	19
1.8.2	<i>Precisión</i>	20
1.8.3	<i>Exactitud</i>	21
1.8.4	<i>Análisis de la varianza (ANOVA)</i>	22
1.8.5	<i>Media o media aritmética (x)</i>	22
1.8.6	<i>Desviación estándar</i>	22
1.8.7	<i>Varianza</i>	23
1.8.8	<i>Coeficiente de variación (CV)</i>	23
1.8.9	<i>Ensayos de intercomparación - Ensayos de aptitud</i>	23
<b>2.</b>	<b>DISEÑO EXPERIMENTAL</b>	24
2.1	<i>Metodología analítica</i>	28
2.1.1	<i>Procedimiento para extracción de grasas y aceites de la mayonesa</i>	28
2.1.2	<i>Metil-esterificación de aceites y grasas</i>	29
2.2	<i>Metodología instrumental</i>	32
2.2.1	<i>Condiciones cromatográficas</i>	32
2.2.2	<i>Calibración del cromatógrafo de gases</i>	33
2.2.3	<i>Análisis del material de referencia y muestras en el cromatógrafo de gases</i>	36
2.2.4	<i>Determinación de las áreas en el material de referencia y muestras en el cromatógrafo de gases</i>	37
2.3	<i>Variables y criterios de aceptación</i>	39
2.3.1	<i>Otros criterios de aceptación</i>	40
<b>3.</b>	<b>CÁLCULOS Y RESULTADOS</b>	43
3.1	<i>Determinación de la linealidad, calibración del equipo</i>	43
3.1.1	<i>Cálculo del factor respuesta en los estándares</i>	43
3.1.2	<i>Cálculo factor respuesta promedio</i>	43
3.1.3	<i>Cálculo de la desviación estándar</i>	44
3.1.4	<i>Cálculo del coeficiente de variación CV</i>	44
3.1.5	<i>Calibración para cada ácido graso con su coeficiente de correlación</i>	46
3.2	<i>Cálculos en las muestras</i>	48

3.2.1 <i>Porcentaje de concentración del analito</i> .....	48
3.3 Determinación de la precisión.....	53
3.3.1 <i>Determinación de repetibilidad y reproducibilidad</i> .....	53
3.4 Determinación de la exactitud.....	60
3.4.1 <i>Cálculo del porcentaje de recuperación</i> .....	60
3.5 Muestras analizadas.....	61
3.5.1 <i>Cálculo del promedio de las muestras</i> .....	61
3.5.2 <i>Cálculo de la desviación estándar de las muestras</i> .....	61
3.6 Cálculo de cantidad de ácidos saludables en las muestras.....	70
3.7 Comparación de resultados .....	71
3.7.1 <i>Comparación de resultados con las etiquetas de los productos de estudio</i> .....	71
3.7.2 <i>Comparación de resultados con normas y referencias</i> .....	73
3.8 Prueba del método de esterificación de aceites.....	74
<b>4. DISCUSIÓN</b> .....	75
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	78
<b>6. RECOMENDACIONES</b> .....	79
<b>CITAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	80
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	82
<b>ANEXOS</b> .....	85



## LISTA DE TABLAS

pág.

Tabla 1. Ácidos grasos saturados e insaturados.....	6
Tabla 2. Clasificación de los métodos cromatográficos en columna.....	15
Tabla 3. Características cromatógrafo de gases.....	32
Tabla 4. Características y condiciones cromatográficas del inyector.....	32
Tabla 5. Características y condiciones cromatográficas del detector.....	33
Tabla 6. Características y condiciones cromatográficas de la columna y horno.....	33
Tabla 7. Material de referencia concentración de cada ácido graso en metil-éster.....	34
Tabla 8. Concentraciones de las diluciones del material de referencia.....	34
Tabla 9. Concentración de cada ácido graso en los estándares de calibración.....	35
Tabla 10. Áreas de cada ácido graso como metil-éster en los estándares de calibración.....	36
Tabla 11. Variables y criterios de aceptación.....	39
Tabla 12. Descripción de las muestras a analizar de acuerdo a su etiqueta.....	41
Tabla 13. Gamas de composición de ácidos grasos de aceites vegetales crudos determinados por CGL de muestras auténticas (expresadas en porcentaje del contenido total de ácidos grasos).....	41
Tabla 14. Gamas de composición de ácidos grasos de aceites vegetales crudos determinados por CGL de muestras auténticas (expresadas en porcentaje como metil ésteres de ácidos grasos, utilizando factor de conversión).....	42
Tabla 15. Cantidad de ácidos grasos presentes en la mayonesa y margarina .....	42
Tabla 16. Resultados de factor respuesta y el promedio.....	45
Tabla 17. Resultados de porcentaje de concentración de aceite 1.....	49
Tabla 18. Resultados de porcentaje de concentración de aceite 2 .....	49
Tabla 19. Resultados de porcentaje de concentración de aceite 3 .....	50
Tabla 20. Resultados de porcentaje de concentración de margarina 1.....	50
Tabla 21. Resultados de porcentaje de concentración de margarina 2.....	51
Tabla 22. Resultados de porcentaje de concentración de margarina 3.....	51
Tabla 23. Resultados de porcentaje de concentración de mayonesa 1.....	52

Tabla 24. Resultados de porcentaje de concentración de mayonesa 2.....	52
Tabla 25. Resultados de porcentaje de concentración de mayonesa 3.....	53
Tabla 26. Resultados promedio en porcentaje de las muestras de aceite.....	56
Tabla 27. Resultados promedio en porcentaje de las muestras de margarinas.....	56
Tabla 28. Resultados promedio en porcentaje de las muestras de mayonesas.....	57
Tabla 29. Resultado ANOVA aceite 1.....	57
Tabla 30. Resultados ANOVA aceite 2.....	57
Tabla 31. Resultados ANOVA aceite 3 .....	58
Tabla 32. Resultados ANOVA margarina 1.....	58
Tabla 33. Resultados ANOVA margarina 2.....	58
Tabla 34. Resultados ANOVA margarina 3.....	59
Tabla 35. Resultados ANOVA mayonesa 1.....	59
Tabla 36. Resultados ANOVA mayonesa 2.....	59
Tabla 37. Resultados ANOVA mayonesa 3.....	60
Tabla 38. Porcentaje de recuperación ácido eláidico.....	60
Tabla 39. Porcentaje de recuperación ácido oleico.....	61
Tabla 40. Porcentaje de recuperación ácido linoleico.....	61
Tabla 41. Porcentaje de recuperación ácido linolénico.....	61
Tabla 42. Resultados en las muestras de aceites.....	62
Tabla 43. Resultados en las muestras de margarinas.....	63
Tabla 44. Resultados en muestras de mayonesas.....	63
Tabla 45. Sumatoria de ácidos grasos insaturados saludables en aceites.....	70
Tabla 46. Sumatoria de ácidos grasos insaturados saludables en margarinas.....	70
Tabla 47. Sumatoria de ácidos grasos insaturados saludables en mayonesas.....	71
Tabla 48. Resultados expresados como triglicéridos.....	71
Tabla 49. Comparación de resultados con las etiquetas de los productos de estudio.....	72
Tabla 50. Comparación de resultados de aceites con la norma CODEX STAN 210-1999.....	73
Tabla 51. Comparación de resultados de margarinas con la referencia de USDA Base de datos nutricionales.....	73
Tabla 52. Comparación de resultados de mayonesa con la referencia de USDA Base de datos nutricionales.....	73
Tabla 53. Resultados de la intercomparación.....	74

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Ácido graso saturado.....	3
Figura 2. Ácido graso insaturado.....	4
Figura 3. Configuración cis de los ácidos grasos insaturados.....	5
Figura 4. Configuración trans de los ácidos grasos insaturados.....	5
Figura 5. Cromatógrafo de gases.....	16
Figura 6. Diseño experimental en aceites.....	24
Figura 7. Diseño experimental en margarinas.....	24
Figura 8. Diseño experimental en mayonesas.....	24
Figura 9. Análisis de ácidos grasos en las mayonesas.....	25
Figura 10. Análisis de ácidos grasos en aceites.....	26
Figura 11. Análisis de ácidos grasos en margarina.....	27
Figura 12. Diagrama de flujo de la extracción de grasa y aceites.....	29
Figura 13. Diagrama de flujo de esterificación de grasas y aceites.....	31
Figura 14. Diagrama de flujo de calibración del cromatógrafo de gases.....	37
Figura 15. Análisis cromatográfico en muestras.....	38
Figura 16. Curva de calibración del ácido elaídico.....	46
Figura 17. Curva de calibración del ácido oleico.....	46
Figura 18. Curva de calibración del ácido linoleico.....	47
Figura 19. Curva de calibración del ácido linolénico.....	47
Figura 20. Comparación de resultados del ácido elaídico en aceites.....	64
Figura 21. Comparación de resultados de ácido oleico en aceites.....	64
Figura 22. Comparación de resultados de ácido linoleico en aceites.....	65
Figura 23. Comparación de resultados de ácido linolénico en aceites.....	65
Figura 24. Comparación de resultados de ácido elaídico en margarinas.....	66
Figura 25. Comparación de resultados de ácido oleico en margarinas.....	66
Figura 26. Comparación de resultados de ácido linoleico en margarinas.....	67
Figura 27. Comparación de resultados de ácido linolénico en margarinas.....	67
Figura 28. Comparación de resultados de ácido elaídico en mayonesas.....	68

Figura 29. Comparación de resultados de ácido oleico en mayonesas.....	68
Figura 30. Comparación de resultados de ácido linoleico en mayonesas.....	69
Figura 31. Comparación de resultados de ácido linolénico en mayonesas.....	69

## LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Certificado del mix de estándares de ácidos grasos (como metil-ésteres).....	86
Anexo B. Certificado de estándares de ácidos grasos.....	88
Anexo C. Resultados de la intercomparación.....	96
Anexo D. Ejemplo de cromatograma del aceite 1.....	98
Anexo E. Ejemplo de cromatograma del aceite 2.....	99
Anexo F. Ejemplo de cromatograma del aceite 3.....	100
Anexo G. Ejemplo de cromatograma de margarina 1.....	101
Anexo H. Ejemplo de cromatograma de margarina 2.....	102
Anexo J. Ejemplo de cromatograma de margarina 3.....	103
Anexo K. Ejemplo de cromatograma de mayonesa 1.....	104
Anexo L. Ejemplo de cromatograma de mayonesa 2.....	105
Anexo M. Ejemplo de cromatograma de mayonesa 3.....	106
Anexo N. Áreas y pesos de las muestras.....	107
Anexo P. Extractor Soxhlet y Cromatógrafo de gases.....	112
Anexo Q. Tablas de ácidos grasos presentes en aceites CODEX STAN 210-1999.....	113
Anexo R. Factor de conversión de ésteres metílicos a ácidos grasos y triglicéridos.....	115
Anexo S. Certificados.....	116

# **DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE ÁCIDO OLEICO, LINOLEICO, LINOLÉNICO Y TRANS ELAÍDICO EN MARGARINAS, ACEITES Y MAYONESAS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES**

## **RESUMEN**

El objetivo del trabajo fue determinar el contenido de ácidos grasos cis: linolénico (omega 3), linoleico (omega 6) y oleico (omega 9) y trans: ácido elaídico, en margarinas, mayonesas y aceites vegetales de mayor expendio en el mercado local por cromatografía de gases.

El estudio se realizó con 3 muestras para cada alimento, de diferentes marcas y en cada una se procedió a efectuar repeticiones durante 4 días. En los aceites y margarinas se procedió a saponificar y esterificar los ácidos grasos; para la mayonesa se requirió procesos previos de hidrólisis y extracción de las grasas y aceites, finalmente todas las muestras en forma de ésteres se cuantificaron por cromatografía de gases.

La confiabilidad de resultados se estableció a través de la determinación de las variables de linealidad, exactitud, precisión y la verificación del método con un ensayo de aptitud (intercomparación), además, se realizaron comparaciones con normas y bases de datos referenciales dando como resultado: porcentajes de grasas trans menores del 2% en todas las muestras y los porcentajes de ácidos grasos saludables (ácido oleico, linoleico y linolénico) para: la mayonesa 1 76,02%, margarina 1 47,54% y aceite 3 88,06%, pero en cantidades diferentes a las declaradas en sus etiquetas y en rangos menores, a las especificaciones de las normas establecidas y datos referenciales.

**PALABRAS CLAVES:** /ÁCIDOS GRASOS/ ÁCIDO OLEICO/ ÁCIDO LINOLEICO/ ÁCIDO LINOLÉNICO/ ÁCIDO TRANS-ELAÍDICO/ MARGARINAS/ ACEITES VEGETALES/ MAYONESAS/ CROMATOGRAFÍA DE GASES/ ANÁLISIS CUANTITATIVO/

# **DETERMINATION OF CONTENT OF OLEIC, LINOLEIC, LINOLENIC AND TRANS-ELAIDIC IN MARGARINES, VEGETABLE OILS AND MAYONNAISE BY GAS CHROMATOGRAPHY**

## **ABSTRACT**

Determine the content of cis fatty acids linolenic acid (omega 3) , linoleic (omega 6) and oleic acid (omega 9) and trans: elaidic acid in margarine , mayonnaise and vegetable oils higher in the local market retailing by gas chromatography , it is the aim of the work.

The study was conducted with 3 samples for each food , different brands and each proceeded to perform repetitions for 4 days. In the oil and margarine proceeded to saponify and esterifying the fatty acids; mayonnaise previous processes for hydrolysis and extraction of fats and oils is required , finally all samples as esters were quantified by gas chromatography .

The reliability of results was established by determining the variables of linearity, accuracy , precision, and verification of the method with a proficiency test , further comparisons were made with standards and reference databases resulting in : percentages of 2% trans fats lower in all samples and the percentages of healthy fatty acids (oleic, linoleic and linolenic) for: the mayonnaise 1 76.02 % , 47.54 % and margarine 1, vegetable oil 3 88.06 % , but different than those stated on their labels and smaller ranges to the specifications of the established standards and reference data quantities.

**KEYWORDS;** /FATTY ACIDS/OLEIC ACID/ LINOLEIC ACID/ LINOLENIC ACID/ TRANS-ELAIDIC ACID/ MARGARINE/ VEGETABLE OIL/ MAYONNAISE/ GAS CHROMATOGRAPHY/ QUANTITATIVE ANALYSIS/

## INTRODUCCIÓN

En el mercado de alimentos del país se ofertan aceites y grasas de consumo alimenticio, que aseguran contenidos de ácidos grasos poliinsaturados, como las PUFAs (Polyunsaturated fatty acids) Omega 3, 6 y 9, además, la presencia/ausencia de ácidos grasos CIS y TRANS.

En sin número de estudios se describe las bondades de la familia de los omegas, sobre todo, para la salud humana, previniendo enfermedades tales como las cerebrovasculares que se encuentran como las principales causas de mortalidad humana; y una de las primeras en el Ecuador.

El mercado de margarinas, mayonesas y aceites vegetales compite por el contenido de estos ácidos grasos y se ha hecho una promoción a la demanda de sus cualidades, lo que naturalmente favorece su consumo; si realmente sus contenidos tienen cantidades adecuadas para consumirlas y favorecer el mercadeo de alimentos ricos en estos ácidos grasos, y procurar apoyar las iniciativas de agricultura en la producción de estos alimentos.

El apoyo de la química orgánica, los procesos físico-químicos y la biotecnología han sido esenciales para desarrollar las actividades planteadas en este trabajo, porque servirá para observar los fenómenos químicos, físicos y su connotación frente a temas como la economía, la agricultura, la salud y otros.

El consumo humano de margarinas, mayonesas y aceites vegetales en el país, ha sido motivo de constantes controversias desde todas las ópticas, siendo relevantes las económicas, las que pueden afectar o beneficiar la salud humana y la agricultura; de ahí que los productores han encontrado beneficios en la adición de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), los cuales en investigaciones demuestran sus bondades para el bienestar de quien los consume.

Se procura conocer si las mayonesas, margarinas y aceites promocionadas en el mercado poseen realmente estos ácidos grasos y la presencia/ausencia de ácidos grasos CIS y TRANS.

Las investigaciones de los PUFAs se han realizado principalmente fuera de los ámbitos nacionales, por lo que es importante presentar este estudio desde la perspectiva académica a nivel nacional.



De acuerdo a los estudios de trabajos de grado anteriores, no se cuenta con información más profunda acerca del contenido de PUFAS, ausencia/presencia de ácidos grasos CIS y TRANS, en los productos de mayor consumo (aceites, margarinas, mayonesas y otros), por esta razón esta investigación se convierte en una necesidad de interés para la comunidad, ya que estos productos en el mercado no cuentan con un estudio de tercera parte sobre el contenido de PUFAS, ausencia/presencia de ácidos grasos CIS y TRANS con su valor nutricional.

Hasta donde se ha investigado, el país no cuenta con los parámetros que se señalan en este estudio; es decir, la inclusión de los ácidos grasos tipo omega de las margarinas y mayonesas de mayor consumo.

El objetivo del trabajo es determinar el contenido de ácidos grasos cis: linolénico (omega 3), linoleico (omega 6) y oleico (omega 9) y trans: ácido elaídico en margarinas, mayonesas y aceites vegetales de mayor expendio en el mercado local por cromatografía de gases.

Es de importancia el estudio porque considera dos relevantes sectores de la vida nacional que son el sector industrial y el sector salud en donde la industria elabora alimentos con cantidades de ácidos grasos provechosos para la salud, es decir que ambos elementos señalados tienen beneficios mutuos.

Los cuatro ácidos grasos insaturados se consideran determinantes para que haya bienestar en la población que las consume. Además, el estudio permitirá ratificar el contenido que indica las etiquetas respectivas de los alimentos investigados.

En el estudio siempre se tuvo como expectativa la investigación de otros ácidos grasos trans (como el ácido linoeláidico) por su controversial función en el organismo humano y de ello la alta incidencia de enfermedades metabólicas y cardiovasculares en el Ecuador.

La investigación no alcanza los análisis de los aceites y grasas señaladas post-cocción otro tema de grandes disensos científicos.

La determinación de ácidos grasos en grasas y aceites vegetales se realizó con reacciones de saponificación y esterificación, para una posterior cuantificación por cromatografía de gases.

## 1. MARCO TEÓRICO

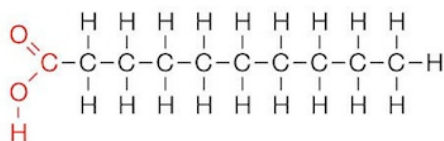
### 1.1 Ácidos Grasos

**1.1.1 Estructura de los ácidos grasos.** Los ácidos grasos poseen en su estructura largas cadenas hidrocarbonadas con un grupo metilo  $\text{CH}_3$  en un extremo de la cadena y un grupo ácido carboxílico  $\text{COOH}$  en el otro, la mayoría de los ácidos grasos naturales contiene 4 a 24 átomos de carbono y la mayoría contienen un número impar de átomos de carbono en la cadena.

El ácido butírico es el ácido graso más pequeño, posee cuatro átomos de carbono y se encuentra en la mantequilla. La manteca de cerdo o el sebo contienen ácidos grasos más largos.

### 1.1.2 Clasificación

**1.1.2.1 Ácidos grasos saturados.** Estos ácidos contienen sólo enlaces sencillos entre los carbonos y tienen la fórmula general  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ . Tienen una forma lineal como se muestra en la figura.

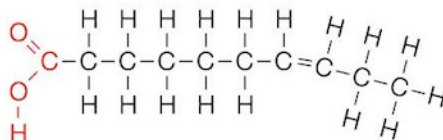


**Figura 1. Ácido graso saturado**

Están unidos a la cadena el número máximo de átomos de hidrógeno que pueden llevar las cadenas carbonadas, son muy estables. Los enlaces sencillos entre dos átomos de carbono (C-C) pueden girar libremente. Por consiguiente la molécula del ácido graso es extremadamente móvil y las cadenas carbonadas de los ácidos grasos pueden disponerse en líneas rectas y ocupar menos espacio.

Por esta razón, las grasas con un gran número de ácidos grasos saturados son sólidas a temperatura ambiente. Por lo que respecta a su uso, esto significa que pueden soportar altas temperaturas y se pueden conservar durante largo tiempo, se encuentran principalmente en las grasas animales.[1]

**1.1.2.2 Ácidos grasos insaturados.** Son aquellos que contienen uno o más enlaces entre los carbonos. Los ácidos grasos monoinsaturados contienen un solo doble enlace y el ejemplo más común es el ácido oleico. Los ácidos grasos poli-insaturados tal como los ácidos linoleico y linolénico contienen dos o más dobles enlaces, generalmente los ácidos grasos insaturados son líquidos a temperatura ambiente y tienen puntos de fusión bajos. Cuantos más dobles enlaces haya, más insaturados y reactivos son los ácidos grasos.



**Figura 2. Ácido graso insaturado**

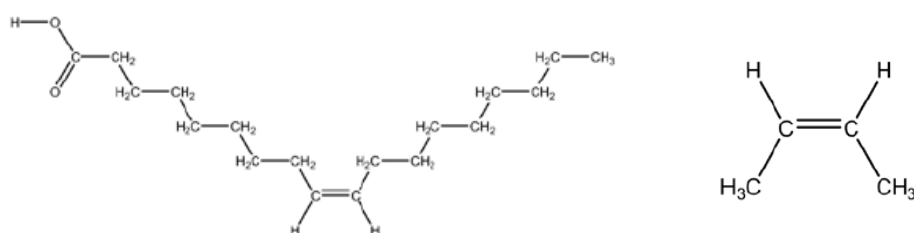
Los dobles enlaces en los ácidos grasos se producen en la configuración cis o trans, representando diferentes estructuras isoméricas. En la forma cis, los átomos de hidrógeno unidos a los átomos de carbono del doble enlace se localizan sobre el mismo lado del doble enlace. En la configuración trans del isómero, los átomos de hidrógeno se localizan en los lados opuestos del doble enlace.

La configuración de los dobles enlaces tienen un efecto significativo sobre la forma de una molécula de ácido graso. Los dobles enlaces trans no cambian significativamente la forma lineal de la molécula, sin embargo, un doble enlace cis causa un pliegue en la cadena. (Un doble enlace cis introduce una curvatura de alrededor de 42 grados en la cadena hidrocarbonada lineal). Tales pliegues afectan a las propiedades de los ácidos grasos, incluyendo sus puntos de fusión. Todas las grasas y aceites naturales que son usados en los alimentos existen en la configuración cis. Sin embargo, la hidrogenación de los aceites causa la conversión de algunos dobles enlaces a la configuración trans.[2]

Las nomenclaturas abreviadas o numéricas son las más utilizadas para determinar un ácido graso insaturado; pero el sistema “omega” ( $\omega$ ) toma como referencia el extremo metilo de la molécula e indica la longitud de la cadena, el número de dobles enlaces y la posición de, solo, el primer doble enlace contando desde el carbono  $\omega$  (el carbono más alejado del carboxilo, al que se asigna la última letra del alfabeto griego ya que, tradicionalmente, al carbono contiguo al grupo carboxilo se le ha denominado alfa).[3]

**1.1.2.3 Ácidos grasos cis.** Los ácidos grasos cis son ácidos grasos insaturados que poseen los grupos semejantes o idénticos (generalmente grupo –H) en el mismo lado de un doble enlace. Los ácidos grasos con dobles enlaces cis no son cadenas rectas sino que poseen un “codo” en el punto donde está el doble enlace; por el contrario, los trans son rectilíneos, los dobles enlaces cis son mucho más comunes en los seres vivos que los trans.

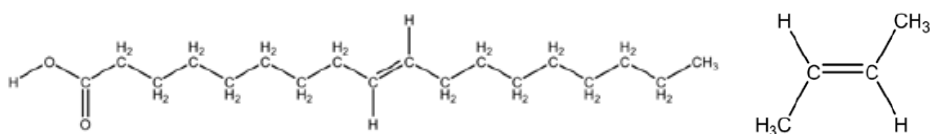
Los ácidos grasos cis son los que se encuentran en la naturaleza en todos los alimentos, se señala como ejemplos: de ácidos grasos cis presentes en la leche, los huevos, aceites de semillas, margarinas vegetales, frutos secos, aceite de hígado de bacalao. Omega 3, 6 y 9 se encuentran en el pescado azul, aguacate, aceite de oliva, entre otros.



**Figura 3. Configuración cis de los ácidos grasos insaturados**

**1.1.2.4 Ácidos grasos trans.** Los ácidos grasos cis son isómeros de los ácidos grasos trans, en los que los –H se disponen uno a cada lado del doble enlace, ácidos trans son de cadenas rectilíneas, los dobles enlaces cis son mucho más comunes en los seres vivos que los trans. Los ácidos grasos trans son un tipo de ácido graso insaturado que se encuentra principalmente en alimentos industrializados que han sido sometidos a hidrogenación como la margarina o al horneado como los pasteles, entre otros, también se encuentran natural en pequeñas cantidades en la leche y la grasa corporal de los animales rumiantes, como ejemplo el ácido elaídico, Linoelaídico entre otros.

Los ácidos grasos trans no sólo aumentan la concentración de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en la sangre sino que disminuyen las lipoproteínas de alta densidad (HDL).



**Figura 4. Configuración trans de los ácidos grasos insaturados**

**Tabla 1. Ácidos grasos saturados e insaturados**

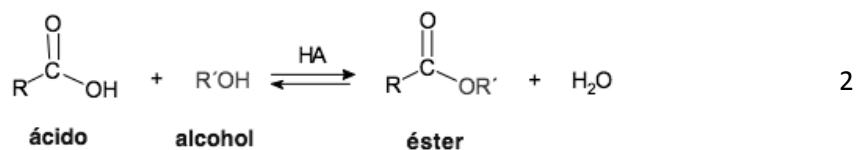
Nombre sistemático		Nombre común	Número de carbonos: Insaturaciones	Punto de fusión	
				°F	°C
Ácidos grasos saturados	Hexanoico	Coproico	6:0	26	-3,4
	Octanoico	Caprílico	8:0	62	16,7
	Decanoico	Cáprico	10:0	89	31,6
	Dodecanoico	Láurico	12:0	112	44,2
	Tetradecanoico	Mirístico	14:0	130	54,4
	Hexadecanoico	Palmítico	16:0	145	62,9
	Octadecanoico	Esteárico	18:0	157	69,6
	Eicosanoico	Araquídico	20:0	168	75,4
	Docosanoico	Behénico	22:0	176	80
Ácidos grasos Insaturados (cis)	9 Octadecenoico	Oleico (omega-9)	18:1	55,4	13
	9,12 Octadecadiénoico	Linoleico (omega-6)	18:2	23	-5
	9,12,15 Octadecatrienoico	$\alpha$ -Linolénico (omega-3)	18:3	12,2	-11
	11 Eicosenoico	Eicosenoico (omega-9)	20:1	75,4	24
	5,8,11,14 Eicosatetraenoico	Araquidónico (omega-6)	20:4	-58	-50
	5,8,11,14,17 Eicosapentaenoico	EPA (omega 3)	20:5	-67,5	-55,3
	13 Docosenoico	Erúico (omega-9)	22:1	92,11	33,4
	4,7,10,13,16,19 Docosahexaenoico	DHA (omega-3)	22:6	-47,2	-44
Ácidos grasos Insaturados (trans)	9 Octadecenoico	Elaídico (trans)	18:1	114,8	46
	9,12 Octadecadiénoico	Linoelaídico (trans)	18:2	82,4	28

### 1.1.3 Reacciones químicas de los ácidos grasos

**1.1.3.1 Saponificación.** La saponificación es una reacción química entre un ácido graso (o un lípido saponificable, portador de residuos de ácidos grasos) y una base o alcalino, en la que se obtiene como principal producto la sal de dicho ácido y de dicha base. [4]



**1.1.3.2 Síntesis de ésteres.** Los ácidos carboxílicos reaccionan con alcoholes, en presencia de un catalizador ácido, formando ésteres y agua.



Las reacciones de esterificación se efectúan bajo catálisis ácida, puesto que en ausencia de ácidos fuertes estas reacciones proceden de forma muy lenta. Para desplazar el equilibrio hacia la formación del éster se añade un exceso del ácido carboxílico o del alcohol. [5]

## **1.2 Margarinas**

Las margarinas son sustitutivos alimenticios de la mantequilla, que pueden diferenciarse químicamente, en mayor o menor grado, según los aceites y grasas utilizados para la elaboración de aquellas.

La mantequilla proviene de la grasa de la leche, mientras que las margarinas son productos que se obtienen a partir de aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados (semillas, pescado), junto incluso a veces a grasas animales, y su posterior dispersión en una solución acuosa que contiene diversos componentes como proteína láctea, sal, saborizantes, colorantes, y a veces vitaminas A, D y E. Las margarinas actualmente son una emulsión de agua en grasa, es decir, hay una fase acuosa y una grasa.

En función del aceite o grasa de partida y del grado de hidrogenación a que se les somete, las margarinas tendrán mayor o menor riqueza en ácidos grasos saturados y serán asimismo más o menos consistentes. De ahí la denominación de margarinas duras y blandas. El hecho citado condujo a la elaboración de margarinas de mayor riqueza en ácidos grasos insaturados, las denominadas margarinas poliinsaturadas, las cuales parten de aceites vegetales predominantemente insaturados que no sufren el proceso de hidrogenación, sino que son emulsionadas obteniéndose así la consistencia adecuada, sin ninguna transformación química indeseable. Con el fin de lograr un buen producto en el sentido de la adecuada consistencia, siempre debe existir una cierta cantidad de ácidos grasos saturados.

Fase acuosa: La fase acuosa es leche desnatada (o una disolución de proteína y agua), que se incuba durante poco tiempo con bacterias lácticas, o sea, menos del que se necesita para elaborar yogur. Las bacterias degradan una pequeña cantidad de lactosa, proteína y grasa, generándose productos de pequeño peso molecular que contribuyen al aroma y sabor del producto terminado.

Fase grasa: Cuando se comenzaron a elaborar las margarinas, el carácter líquido de los aceites insaturados, que se utilizaban como materia prima de partida, obligaba a someterlos a un

proceso de hidrogenación a elevadas temperaturas (de 1000 a 2000 °C) y altas presiones, que convertían gran parte de los ácidos insaturados en saturados, los cuales, al ser sólidos a temperatura ambiente (o sea, con un punto de fusión más elevado), permitían obtener un producto semejante a la mantequilla.

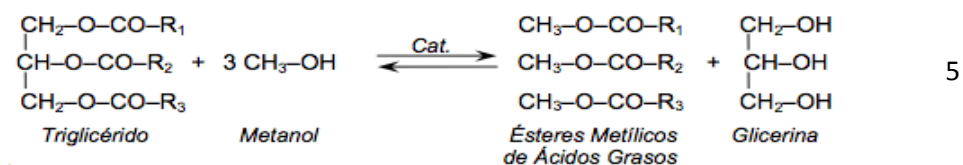
Además de lo indicado, durante el proceso de hidrogenación se produce una modificación química de los ácidos grasos, formándose unos compuestos no naturales, los ácidos grasos trans, que pueden tener efectos nocivos en el organismo cuando se alcanzan determinados niveles de ingesta. Asimismo, se producen isómeros en forma aleatoria de los dobles enlaces a lo largo de la cadena del ácido graso.

La obtención de la margarina ha sido posible gracias a distintos procesos tecnológicos, entre los que destacan la hidrogenación y la transesterificación.

**1.2.1 Hidrogenación y transesterificación de aceites y grasas.** La hidrogenación es la saturación con hidrógeno de los dobles enlaces de los ácidos grasos de los triglicéridos correspondientes, en presencia de un catalizador correspondiente (níquel es el más usado), da lugar a nuevos triglicéridos con un punto de fusión más elevado (endurecimiento de las grasas). Ésta es la base de la fabricación de margarinas, partiendo de aceites como soja, colza, pescados, etc., estos últimos especialmente utilizados en países del norte de Europa donde existen abundantes fábricas de harina de pescado, siendo el aceite un subproducto abundante. En este proceso se forman asimismo diversos isómeros tanto de posición (desplazamientos de dobles enlaces) como geométricos como son los ácidos grasos trans que, además de contribuir a elevar el punto de solidificación de la grasa, poseen efectos nocivos.



La transesterificación se realiza cuando se calienta un glicérido (triglicérido o diglicérido, por ejemplo) con un catalizador (metoxilato sódico es el más usado), los ácidos grasos cambian su lugar de esterificación inicial, produciéndose un reordenamiento al azar.



Según las condiciones en que se lleve a cabo el proceso, dominarán unos triglicéridos más saturados o menos, lo que afectará a sus propiedades físicas, como por ejemplo el punto de fusión, lo que permite diversas aplicaciones, como la obtención de distintas grasas plásticas (margarinas, por ejemplo), desdoblamiento de la manteca de cerdo en una grasa sólida y un aceite culinario, obtención de margarinas de características especiales de fusión, etc.

Los emulsionantes utilizados son fosfolípidos, lisofosfolípidos, monoglicéridos y diversos componentes sintéticos. Recientemente los avances tecnológicos en los procesos de emulsificación y la existencia de emulgentes de gran capacidad permiten obtener "preparados para untar bajos en grasa", que logran una consistencia semejante a las margarinas, pero aportan menos calorías. En estos preparados la fase acuosa puede llegar a ser del 70%, frente al 15% en el caso de margarinas.[6]

### 1.3 Aceites

Aceite viene de la palabra árabe az-zait, que significa jugo de aceituna. El concepto de aceite se utiliza para denominar a diferentes y numerosos líquidos de tipo graso, con procedencias diferentes, pero con la incapacidad común de disolverse en el agua, pues poseen todas unas densidades menores que ella. En un principio, aceite hacía referencia solamente al aceite de oliva, pero hoy en día el término se ha generalizado para designar a todo tipos de aceites, ya sean de origen vegetal, animal o mineral.

Son diversas las plantas oleaginosas que permiten la obtención de aceites y de otros productos derivados, e igualmente son muy distintas las producciones mundiales de los correspondientes frutos y semillas. [7]

### 1.4 Mayonesa

La mayonesa es una emulsión aceite en agua, constituida básicamente por aceites vegetales comestibles, huevo o yema de huevo, vinagre y zumo de limón; puede contener ingredientes



facultativos, como clara de huevo de gallina, productos de huevo de gallina, azúcares, sal de calidad alimentaria, condimentos, especias, hierbas aromáticas, frutas y hortalizas, con inclusión de jugos de frutas y hortalizas, mostaza, productos lácteos y agua.

La emulsión es formada mezclando lentamente el aceite con una pre-mezcla consistente de huevo, vinagre y mostaza, porque el mezclar el aceite de una sola vez con la fase acuosa resultaría la formación de una emulsión agua en aceite.[8]

### **1.5 Extracción de aceites y grasas en los alimentos**

La mayoría de las veces la grasa está contenida de forma natural en la matriz celular de alimentos o ligada químicamente. En este caso llevar a cabo una hidrólisis anterior a la extracción se hace necesario para separar los aceites y grasas por completo. Si se aplica calor, el ácido clorhídrico rompe los ácidos grasos de los glicéridos, glico- y fosfolípidos y éster de esteroles. También rompe uniones de carbohidratos lípidos, ayuda en la hidrolización de proteínas y polisacáridos y altera las paredes celulares. El hidrolizado de la muestra digerida se filtra. El residuo del filtro con la grasa se enjuaga con agua para liberarla del ácido. Al final el residuo del filtro se seca y posteriormente se extrae.

Para la extracción de los aceites y grasas a nivel de laboratorio se utiliza el método soxhlet, consiste en un medio de extracción sólido-líquido que extrae componentes lipídicos de una matriz, por medio de un solvente apolar.

Es un método aplicable a alimentos en general, aunque con excepción de aquellos en los que la grasa está recubierta (como los productos lácteos), y para la obtención de la fracción de grasa libre de la muestra para su posterior caracterización. Los solventes más utilizados para extraer la grasa libre son el éter dietílico, el éter de petróleo y el hexano, para fines de cuantificación de grasa se requiere una muestra anhidra, para no extraer además azúcares y otros compuestos.[9]

### **1.6 Ácidos grasos y salud**

Desde la nutrición el término “grasa”, es designado a un conjunto de nutrientes de gran heterogeneidad química, por su diferente composición en ácidos grasos, de ello se considera su efecto biológico variará dependiendo del ácido graso que predomine en su molécula. Todas las grasas son insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos, están presentes en todas las

células animales y vegetales y la mayoría se pueden sintetizar a partir de los hidratos de carbono.

La generalidad se encuentran en la alimentación como triglicéridos, considerados macronutrientes imprescindibles para el ser humano. Su función es la de servir como reservorio calórico a largo plazo.

Los ácidos grasos se clasifican por la presencia de dobles enlaces en sus moléculas pudiendo ser ácidos grasos saturados, los cuales no poseen dobles enlaces y el otro grupo son los insaturados.

Los ácidos grasos insaturados se clasifican a la vez en monoinsaturados, que tiene un doble enlace y ácidos grasos poliinsaturados con dos o más dobles enlaces, todo ellos son de tipo cis, representando la mayoría de grasas de la dieta.

Existen ácidos grasos trans naturales son menos frecuentes, han adquirido mucha importancia porque su transformación se debe al proceso de industrialización a partir ácidos grasos insaturados, debido a sus múltiples efectos poco deseables en la salud producen gran preocupación dentro de las autoridades sanitarias del mundo occidental.

Hasta hace pocas décadas, el consumo de una dieta armónica en buena parte de la sociedad ecuatoriana era una realidad, sin embargo existían grupos excluidos que su dieta era muy pobre en grasas y proteínas, sobre todo en las áreas rurales, los niños/as, mujeres y ancianos eran los más afectados.

Hoy pese a la mejor accesibilidad a todo tipo de alimentos, a los avances en la comunicación de parte de los grandes y más sintonizados medios de comunicación, las grasas son los alimentos que producen mayor controversia, son satanizados e incluso se aconseja eliminar su consumo de manera permanente de la dieta cotidiana. Para contrarrestar esta tendencia se puede afirmar que en estudios con evidencias abundantes las grasas son elementos esenciales en la fisiología celular del cuerpo humano.

Tres son sus funciones relevantes: calórica, reguladora y estructural. Dentro de la función calórica, los ácidos grasos aportan al organismo 9 kilocalorías por gramo, más del doble de las proteínas y de los hidratos de carbono. De la función estructural, se las encuentra como parte de las membranas celulares en su mayor parte, importante en la vida de las células eucariotas. La función reguladora metabólica, es realizada en algunos sistemas como en el endócrino

conformando algunas hormonas, en el sistema respiratorio, vascular, inmunológico y reproductor su función de regulación tiene importancia prioritaria, función destacable tienen en la transcripción genética.

Los ácidos grasos esenciales no pueden ser sintetizados por el cuerpo humano, deben ser aportados por la dieta, y son el ácido linoleico, (AL con 18 átomos de carbono, omega 6) y el linolénico ALA, con los mismos átomos de carbono pero omega-3. Entre ellos son de gran importancia biológica el ácido araquidónico, un omega-6 derivado de el AL, que es precursor de los eicosanoides y tiene una molécula de 20 átomos de carbono y los ácidos grasos eicosapentanoicos (EPA, con 20 átomos de carbono) y el docosahexaenoico (DHA, con 22 átomos de carbono, ambos derivados del ALA y por tanto de la serie omega-3. Ambos pueden ser sintetizados por el ser humano, pero su capacidad para ello es limitada porque se necesita un aporte dietético.

Desde luego que existen grasas que consumidas de manera excesiva o con características específicas, pueden perjudicar al organismo especialmente al sistema cardiovascular, dentro de estas sobresalen las grasas saturadas las cuales se encuentran de manera abundante en los alimentos de origen animal y en ciertas grasas vegetales, como en el coco, palma y cacao consumidos en nuestra dieta. El consumo de carne y de leche es abundante en nuestra dieta, estos alimentos sobre todo la mantequilla es rica en ácidos grasos palmítico y esteárico, el coco en ácido láurico.

Los ácidos grasos vegetales como el de las semillas son pobres en grasas saturadas, más bien, se encuentran los ácidos grasos monoinsaturados como el oleico que es abundante en el aceite de oliva.

Los ácidos grasos poliinsaturados, se encuentran en las frutas, como ácido linolénico, u Omega 3 cuya característica química es tener un enlace doble en la posición del carbono 3, contando desde el carbono más alejado del carboxilo. El ácido Linoleico u Omega 6 doble enlace en el carbono de la posición 6, se encuentra en los pescados azules, a los cuales se les da cualidades saludables, apoyando el metabolismo vascular.

Las grasas trans se consideran no saludables porque se cree que elevan en la sangre las lipoproteínas de baja densidad o LDL, mientras que bajan las lipoproteínas de alta densidad o HDL, ambas grasas se relacionan de manera estrecha con el sistema cardiovascular, las LDL, movilizan las grasas a la luz del vaso sanguíneo, produciendo ateromas es decir acúmulo de grasas dentro del vaso y coadyuvando los procesos inflamatorios; al bajar los HDL, cambian los

procesos metabólicos fisiológicos de los ácidos grasos lo que incide en la salud de los vasos coronarios es decir aquellos que nutren al músculo cardíaco.[10]

Existen dos tipos de ácidos grasos que en los últimos años han ganado relevancia, los ya señalados trans generados en el proceso de hidrogenación de las grasas y los CLA ( ácidos linoleicos conjugados).

Los primeros se han relacionado con distintos efectos proaterogénicos, entre los que destaca su efecto reduciendo el colesterol HDL e incrementando el colesterol LDL, siendo los isómeros monoinsaturados C18:1 los que predominan en la dieta.

El efecto lipídico indicado se ha demostrado con el ácido elaídico, isómero trans del ácido oleico, y tal vez no sería común a otros ácidos grasos de este tipo.

Un ejemplo de ello es el ácido vacénico, con el doble enlace trans en posición C-11 y que supone la mitad de los ácidos grasos de este tipo presentes de manera natural en la grasa de los rumiantes. Este ácido graso, junto a otros trans, pertenece a los antes mencionados CLA, de gran interés porque se le atribuyen propiedades saludables sobre el metabolismo de la glucosa y el colesterol, por lo que serían potencialmente beneficiosos, sin embargo faltan estudios y su consumo no debe ser en cantidades abundantes.

**1.6.1 Consumo de grasas y la salud cardiovascular.** La grasa no debe proporcionar más del 35% de la energía total diaria. En los y las niñas menores de 4 años, podrá ser del 40%.

Los ácidos grasos insaturados deben ser la fuente principal de energía aportada por la grasa. Se utilizará preferentemente el aceite de oliva en todas sus variedades y posibilidades culinarias.

Otras fuentes de grasas insaturadas podrán los aceites de semillas y sus derivados, como las actuales margarinas con menos del 1% de ácidos grasos trans.

Para mejorar el perfil graso de la dieta hay que garantizar un aporte adecuado de pescado al menos dos veces por semana y elegir carnes magras. En los y las niñas y en las embarazadas se procurará alcanzar las tres o cuatro veces semanales, evitando aquellos pescados que contengan concentraciones elevadas de mercurio ( atún grande, pez espada, tiburón, etc.).

Se debe recomendar el consumo de leche desnatada y sus derivados, sobre todo a la población infanto-juvenil con exceso de peso o hiperlipidemias.

## **1.7 Cromatografía**

La cromatografía es un método de separación de componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas, dándole su valor ya que en otros métodos no se separan.

La fase móvil de las cromatografías, permite desplazar a la muestra, puede ser un gas, un líquido o un fluido súper crítico ésta fase móvil se hace pasar a través de una fase estacionaria, con la que es inmiscible, y que se fija con una columna o a una superficie sólida. Las dos fases se eligen de tal forma, que los componentes de la muestra se distribuyen de modo distinto entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que son fuertemente retenidos por las fases estacionarias se mueven lentamente con el flujo de la fases móvil; por el contrario, los componentes que se unen débilmente a la fase estacionaria, se mueven con rapidez. Como consecuencia de la distinta volatilidad los componentes de la muestras se separan en bandas o zonas discretas que pueden analizarse cualitativamente y/o cuantitativamente. [11]

**1.7.1 Tipos de cromatografía.** Se clasifican los métodos cromatográficos de acuerdo a la forma en que las fases estacionarias y móviles se ponen en contacto.

**Tabla 2. Clasificación de los métodos cromatográficos en columna**

<b>CLASIFICACION GENERAL</b>	<b>MÉTODO ESPECÍFICO</b>	<b>FASE ESTACIONARIA</b>	<b>TIPO DE EQUILIBRIO</b>
Cromatografía de líquidos (LC) (Fase móvil líquida)	Líquido-líquido, o reparto	Líquido absorbido sobre un sólido.	Distribución entre líquidos inmiscibles
	Líquido-fase unida químicamente	Especies orgánicas enlazadas a una superficie sólida.	Distribución entre el líquido y la superficie enlazada
	Líquido-sólido o adsorción	Sólido	Adsorción
	Intercambio iónico	Resina de intercambio iónico	Intercambio iónico
	Exclusión por tamaño	Líquidos en los intersticios de un sólido polímero	Distribución/exclusión
Cromatografía de Gases (GC) (Fase móvil: gas)	Gas líquido	Líquido adsorbido sobre un sólido	Distribución entre un gas y un líquido.
	Gas- fase unida químicamente	Especies orgánicas enlazadas a una superficie sólida	Distribución entre el líquido y la superficie enlazada
	Gas- sólido	Sólido	Adsorción

Fuente: SKOOG, Douglas y HOLLER, James y NIEMAN, Timothy. Principios de análisis instrumental, Quinta edición, Editorial McGraw Hill, Madrid, 2001. p. 664

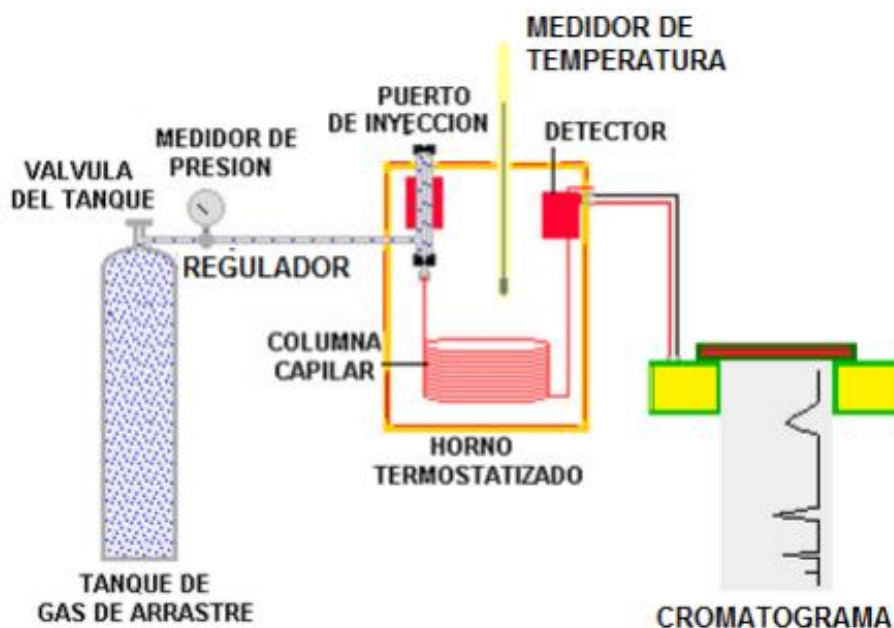
**1.7.2 Cromatografía en fase gaseosa.** La cromatografía de gases es la técnica a elegir para la separación de compuestos orgánicos e inorgánicos térmicamente estables y volátiles. La cromatografía gas-líquido lleva a cabo la separación por medio del reparto de los componentes de una mezcla química, entre una fase gaseosa que fluye (móvil) y una fase líquida estacionaria sujeta a un soporte sólido. En la cromatografía de gases los componentes de una muestra vaporizada se separan como consecuencia del reparto entre una fase gaseosa y una fase estacionaria contenida en una columna.

Al efectuar una separación cromatográfica de gases, la muestra se vaporiza y se inyecta en la cabeza de la columna. La elución se lleva a cabo mediante el flujo de una fase móvil de gas

inerte. A diferencia de la mayoría de las otras técnicas cromatográficas la fase móvil no interactúa con las moléculas de los compuestos a separar, su única función es transportar los compuestos a través de la columna. [12]

La cromatografía de gases es ampliamente utilizada en el análisis de aceites esenciales, la complejidad de la muestra puede ser un reto. Muchos de los ácidos grasos de estos productos son frágiles e importantes comercialmente.

Se utiliza la cromatografía de gases para cuantificar componentes específicos que podrían ser indicativos de calidad del aceite y para detectar adición de compuestos clandestinos como antioxidantes así como componentes utilizados como diluyentes.



**Figura 5. Cromatógrafo de gases**

**1.7.2.1 Gas portador.** Se encarga de transportar los componentes volátiles de la muestra a través de la columna, el cual debe ser inerte y no reaccionar ni con la muestra ni con la fase estacionaria.

Este gas puede influir en la separación como en la velocidad y determina la selección del detector. Es importante que el gas portador sea de alta pureza, las impurezas pueden alterar químicamente a la fase líquida y por ende modificar los tiempos de retención.

**1.7.2.2 Sistemas de inyección de muestras.** La columna requiere para su eficacia que la muestra sea un tamaño adecuado y que sea introducido como un tapón de vapor, se realiza de mejor manera con el uso de una micro jeringa para inyectar una muestra líquida o gaseosa a través de un septum o tapón de goma de silicona en una cámara de vaporización instantánea situada en la cabeza de la columna.

Para columnas capilares el tamaño de la muestra es de aproximadamente 10  $\mu\text{L}$ , en algunos casos se emplea un sistema divisor de la muestra que permite pasar a la cabeza de la columna solamente una pequeña fracción de la muestra, desechándose el resto de la misma.

**1.7.2.3 Columna y Horno de la columna.** Se utilizan dos tipos: las rellenas y las abiertas o capilares, estas más eficaces y rápidas. Pueden variar de 2 a 100 m de longitud.

Se construyen con acero inoxidable, vidrio, sílice fundida o teflón; normalmente se configuran como helicoides con diámetros externos de las columnas capilares es de 0,15 cm y el diámetros internos de 0,025 a 0,05 cm; para colocarse en el interior de un horno termostatzado. La temperatura de la columna es una variable importante que para un trabajo preciso ha de regularse a las décimas de grado. La temperatura recomendable de la columna dependerá del punto de ebullición de la muestra y del grado de separación requeridos.

**1.7.2.4 Sistemas de detección.** Los detectores son dispositivos que miden la concentración de cada uno de los componentes de la muestra y genera una señal eléctrica proporcional a dicha concentración. Existen varios detectores como el detector de ionización de llama, detector de captura de electrones, detectores de conductividad térmica y otros.

Las características adecuadas para un buen detector es que deben tener: sensibilidad adecuada, bajo nivel de ruido, buena estabilidad y reproducibilidad, alta fiabilidad, manejo sencillo y de volumen pequeño.

La sensibilidad es la cantidad de señal generada por unidad de concentración o por unidad de más de un analito en el gas transportador. Las unidades de sensibilidad se basan en la medida



del área de los picos. Por otra parte el detector debe ser rápido, capaz de revelar casi instantáneamente variaciones de concentración en el gas portador que emerge de la columna cromatográfica; esta rapidez de respuesta es inherente a la naturaleza del detector, pero puede disminuir si el volumen interno del mismo es grande. Para obtener una buena información cuantitativa la respuesta del detector debe ser lineal y con un margen de linealidad lo más amplio posible. [13]

**1.7.2.5 Detector de ionización de llama (FID).** Es el más extensamente utilizado y el más aplicable en cromatografía de gases. En un quemador el efluente de la columna se mezcla con hidrógeno y aire para luego encenderse eléctricamente.

El detector FID (Flame ionization detector) funciona mediante la pirolisis del material que eluye de la columna en una llama de hidrógeno/aire con exceso de oxígeno. Cuando pasan por el detector los compuestos separados por la columna reaccionan. Los iones producidos son conducidos mediante un campo eléctrico hacia el colector, donde la corriente generada se amplifica para producir una respuesta.

La ionización en la llama de los compuestos que contienen carbono no es un proceso bien establecido, aunque se observa que el número de iones que se produce es relativamente proporcional al número de carbonos reducidos en la llama. El detector de ionización de llama responde al número de carbonos que entran en el detector por unidad de tiempo, por ello, es más un detector sensible a la masa que a la concentración.

El FID es un detector general para compuestos orgánicos, pero su desventaja radica en que es destructivo de la muestra.

### **1.7.3 Otros conceptos de cromatografía**

**1.7.3.1 Tiempo de retención.** Es el tiempo que transcurre después de la inyección de la muestra hasta que el pico de concentración del analito alcance el detector y se le da el símbolo de  $t_R$ .

**1.7.3.2 Línea de base.** Es la parte del registro que corresponde a la fase móvil pura (gas portador).

**1.7.3.3 Tiempo cero o tiempo de retención del componente inerte.** El tiempo cero o tiempo muerto, es el tiempo de retención del componente inerte o gas portador.

**1.7.3.4 Área del pico.** Es la comprendida entre el pico y la prolongación de la línea de base. Para obtener el valor de este parámetro, en los picos del cromatograma, se dedican los dispositivos integradores.

## **1.8 Variables para la determinación de ácidos grasos**

Para conseguir que un proceso analítico sea considerado riguroso en la técnica utilizada, es necesario verificar los resultados, dentro de especificaciones y atributos de calidad.

Para el análisis de ácidos grasos es imperioso en la investigación, que los resultados obtenidos sean confiables y comparables a través de linealidad, exactitud, precisión entre otras variables relevantes.

**1.8.1 Linealidad.** Es la capacidad del método analítico de proporcionar resultados que son directamente (o por medio de transformaciones matemáticas) proporcionales a la concentración del analítico en la muestra, dentro del rango establecido.

En lo posible se debe buscar respuestas de tipo lineal, éstas facilitan el trazado, interpolación e interpretación.

La linealidad, dentro de cualquier procedimiento, existen criterios mínimos que deben ser aplicados, así: se recomienda estudiar al menos cuatro niveles de concentración, lo adecuado sería analizar la muestra de manera aleatoria, lo práctico se considera hacerlo de acuerdo a las concentraciones de manera creciente, con esto se consigue minimizar los posibles efectos de memoria en el equipo.

Es recomendable hacer pesadas independientes con ello se elimina un posible error sistemático, que se podría arrastrar partiendo de una sola pesada y realizando diluciones. En las impurezas se suelen utilizar sucesivas diluciones para evaluar la linealidad, porque se trabaja generalmente con niveles de concentración bajas y esto dificultaría las pesadas. Con los resultados del estudio de la linealidad, se prepara una tabla relacionando las concentraciones “x” la respuesta.

La relación entre ambas variables se expresa matemáticamente como una recta de regresión del tipo  $y=bx+a$ , obtenida por un método de ajuste.[14]

Si la recta no pasa cerca del origen de coordenadas significa que el método a evaluar está afectado por un error sistemático por defecto o por exceso en el intervalo estudiado. Si existen diferencias apreciables entre los valores experimentales y los puntos de la recta significa que la linealidad no es buena.

En la recta de regresión  $y=bx+a$ , “x” es la concentración y la respuesta, “b” el valor de la pendiente y, a el término independiente.

La pendiente se encuentra relacionada con la sensibilidad del método de forma que a mayor pendiente mayor sensibilidad. (respuesta del método frente a los cambios de la concentración del analito). El término independiente a, u ordenada en el origen, es la intersección de la recta con el eje de las ordenadas y es indicativo del error sistemático, no difiriendo estadísticamente de cero en caso de no existir sesgo.

El coeficiente de correlación (r) nos indica el caso de relación entre la variable x (concentración), y la variable (respuesta). Su valor máximo es 1, si **r** es cercano a la unidad significa que existe correlación con una probabilidad elevada. Un valor nulo indica ausencia de la relación lineal entre variables.

El valor recomendable para el coeficiente de correlación es 0,999, aunque en el caso de impurezas se admite 0,990.

Para la conformidad de resultados de la linealidad, con la determinación del coeficiente de variación CV hasta 10%.

**1.8.2 Precisión.** Expresa el grado de concordancia (grado de dispersión) entre una serie de medidas de tomas múltiples a partir de una misma homogénea en las condiciones prescritas. Generalmente se expresa en términos de desviación estándar (SD), otra forma de expresarla es la desviación estándar relativa o coeficiente de variación (CV).

El origen de las muestras definidas para el estudio de la precisión pueden ser de muestras reales o preparadas en el laboratorio.

El estudio de la precisión tiene como objetivo conocer la variabilidad o el más menos del método de ensayo. La variabilidad es debida a errores aleatorios inherentes a todo método de ensayo, la consecuencia de la existencia de estos errores, los análisis efectuados sobre muestras idénticas, en las mismas circunstancias, no conducen generalmente a resultados idénticos, es importante señalar que los factores susceptibles a influir sobre los resultados de un ensayo no pueden ser siempre controlados, (analista, equipo, instrumental, reactivos, un tiempo, etc.).

La repetibilidad se expresa matemáticamente por el coeficiente de variación (desviación estándar relativa) de una serie de medidas. Uno de los factores que más influyen en la repetibilidad del método de análisis es la concentración del analito, la desviación estándar de las respuestas obtenidas aumenta, al disminuir la concentración del analito.

La repetibilidad instrumental estudia la variabilidad debida únicamente al instrumento y se determina analizando repetidamente una misma muestra en forma consecutiva de 6 a 10 veces.[15]

El objetivo importante de la reproducibilidad es verificar que el método de análisis proporcione los mismos resultados siendo aceptable hasta el 10% en el CV. Cuanto mayor sea la manipulación de la muestra más probable es que la variabilidad del método aumente.

**1.8.3 Exactitud.** Expresa la proximidad entre el valor que es aceptado convencionalmente como valor verdadero o un valor de referencia y el valor experimental encontrado.

La precisión está relacionada con la dispersión de una serie de mediciones, pero no da de ninguna manera lo cerca que esta del valor verdadero; para que un método sea exacto se requiere un cierto grado de precisión.

Cuando se dispone de patrones de referencia certificados, el valor del mismo es el que se acepta como valor verdadero y la exactitud puede evaluarse aplicando el método sobre dicho patrón, o bien analizando muestras de placebo.

La exactitud, en la valoración se expresa como porcentaje de recuperación; en la valoración de una cantidad conocida de analito añadida sobre la muestra o como la diferencia entre la media obtenida y el valor aceptado como verdadero junto a los intervalos de confianza. La exactitud puede desviarse por excesos, esto se produce cuando existen interferencias y la selectividad del método no es adecuada, entonces se obtienen resultados superiores al valor verdadero, en este

caso, si es posible, se deberían modificar las condiciones del método para optimizar la selectividad o bien cambiar a otro alternativo que sea selectivo, donde se acepta cuando el CV es hasta 10%.

**1.8.4 *Análisis de la varianza (ANOVA).*** Se lo conoce también como factor controlado o de efecto fijo; que es una técnica estadística muy potente que se utiliza para estimar y separar las diferentes causas de la variación, se puede utilizar para separar la variación debida al error aleatorio de cualquier otra variación que venga provocada al cambiar el factor de control. Así se puede contrastar si una alteración del factor de control conduce a diferencias significativas entre los valores medios obtenidos.

Se emplea las técnicas ANOVA, en situaciones donde hay más de una fuente de variación aleatoria. Se podría considerar un ejemplo: la pureza del cloruro de sodio contenido en un barril, las muestras se toman elegidas al azar, de diferentes partes del barril, se realizan análisis repetidos de las muestras; además de error aleatorio en la medida de la pureza, habrá también diferencias en la pureza de las muestras tomadas de distintas partes del barril. Puesto que las muestras se eligieron al azar, está variación será aleatoria y a veces se conoce como factor de efecto aleatorio. Nuevamente se puede utilizar ANOVA para separar y estimar las fuentes de variación. Donde hay un factor, ya sea controlado o aleatorio, además del error aleatorio de las medidas, se reitera se conoce como ANOVA de un factor. Los procedimientos aritméticos son similares en los casos del factor de efecto fijo y aleatorio

**1.8.5 *Media o media aritmética ( $\bar{x}$ ).*** Es el valor numérico que se obtiene dividiendo la suma de una serie de medidas repetidas entre el número de los resultados individuales en la serie

$$\bar{X} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} \quad (1)$$

**1.8.6 *Desviación estándar o desviación típica (s).*** Viene dada por la expresión:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \mu)^2}{n}} \quad (2)$$

donde  $\mu$  es el valor medio de un número infinitamente grande de medidas, valor que -en la práctica- no se conoce y que nos obliga a utilizar  $\bar{x}$  que es la media de un número pequeño de mediciones (lo que se conoce como muestra estadística).[16]

Con el fin de poder tratar estadísticamente nuestros datos, debemos asumir que los pocos resultados obtenidos repetitivamente en el laboratorio son representativos de un número infinito que podrían haber sido llevados a cabo. Los estadísticos se refieren a este pequeño número de datos como a una muestra y lo ven como un subconjunto de una población (o universo) de datos existentes en principio. por supuesto, no hay que confundir la muestra estadística con la muestra analítica. cuatro muestras analíticas analizadas en el laboratorio constituyen una sola muestra estadística). por ello, para un número pequeño de medidas la desviación estándar se define como:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (3)$$

**1.8.7 Varianza.** Es el cuadrado de la desviación estándar, y es una magnitud aditiva

$$\sigma_T^2 = \sigma_1^2 + \sigma_2^2 + \sigma_n^2 \quad (4)$$

$$S_T^2 = S_1^2 + S_2^2 + \dots + S_n^2 \quad (5)$$

**1.8.8 Coeficiente de variación (CV).** Es un término que se utiliza, a veces, para describir la precisión de los resultados analíticos.

Se define como:

$$CV = \frac{\sigma}{\bar{x}} \times 100 = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad (6)$$

Es decir, es la desviación estándar relativa (%RSD relative standard deviation) expresada como porcentaje.

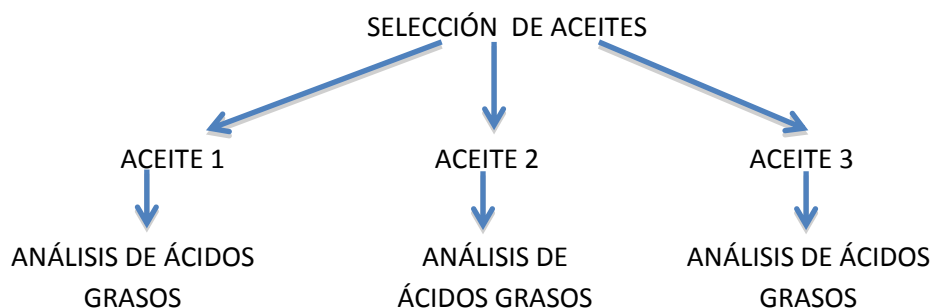
**1.8.9 Ensayos de intercomparación - Ensayos de aptitud.** Es el uso de comparaciones interlaboratorios para determinar el desempeño individual de los laboratorios para realizar ensayos específicos o mediciones.

Evalúa la habilidad de los laboratorios en la ejecución de ensayos o mediciones específicas. Estos ensayos ayudan a facilitar a los laboratorios el comparar su desempeño con otros laboratorios similares.[17]

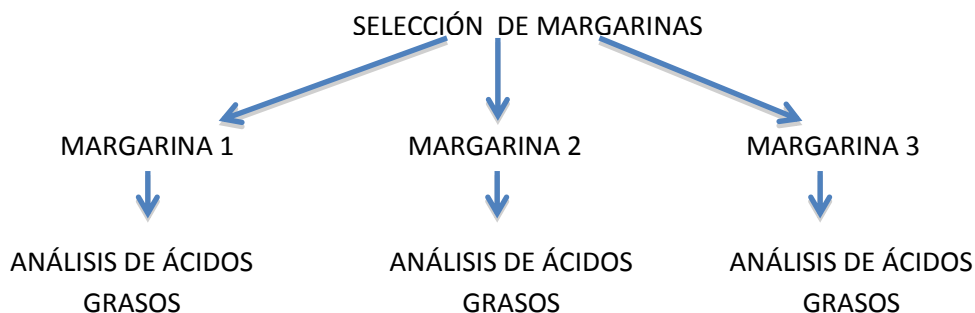
Los ejercicios de intercomparación, en la determinación de ácidos grasos permiten identificar algunos problemas relacionados con la calibración de los equipos y la adecuación de procedimientos, además, permite asignar valores a materiales de referencia, lo que facilita la cuantificación de los ácidos grasos, permite conocer la capacidad del método y con ello determinar la reproducibilidad y repetibilidad del método para esterificar aceites y grasas.

## 2. DISEÑO EXPERIMENTAL

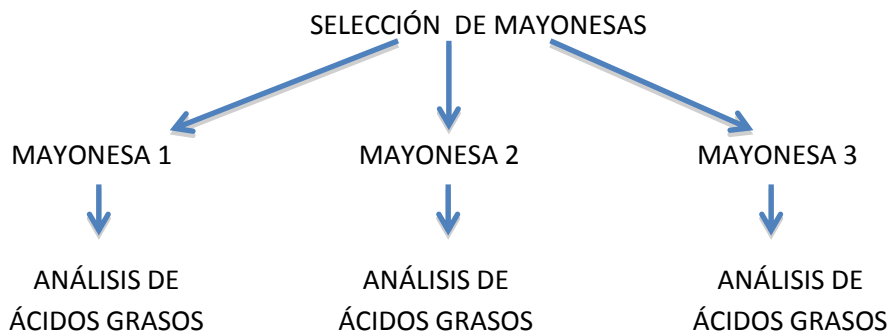
Para la determinación de los ácidos grasos (cuantificados como metil-ésteres de ácidos grasos) en las muestras se ha planteado el siguiente diseño experimental:



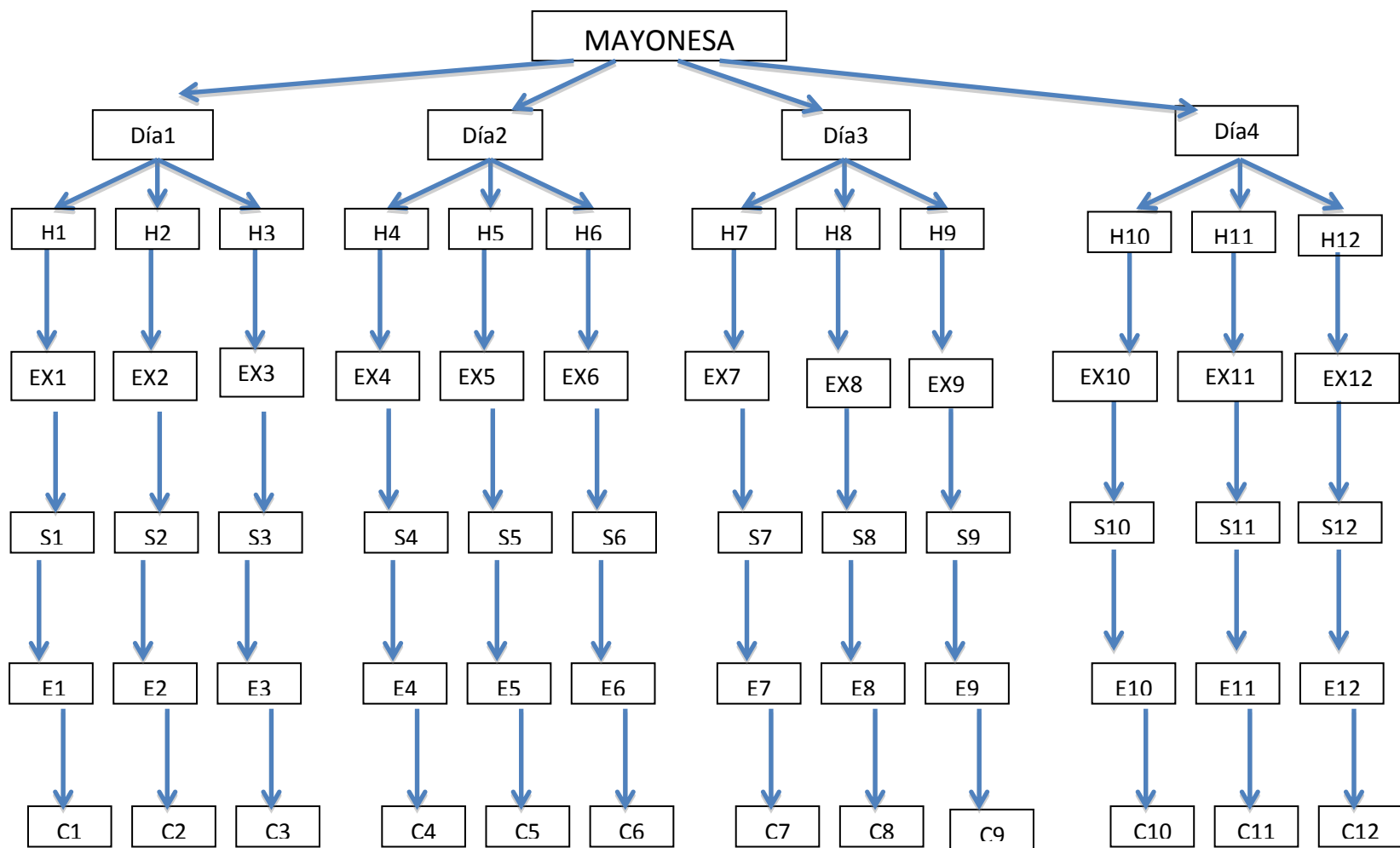
**Figura 6. Diseño experimental en aceites**



**Figura 7. Diseño experimental en margarinas**



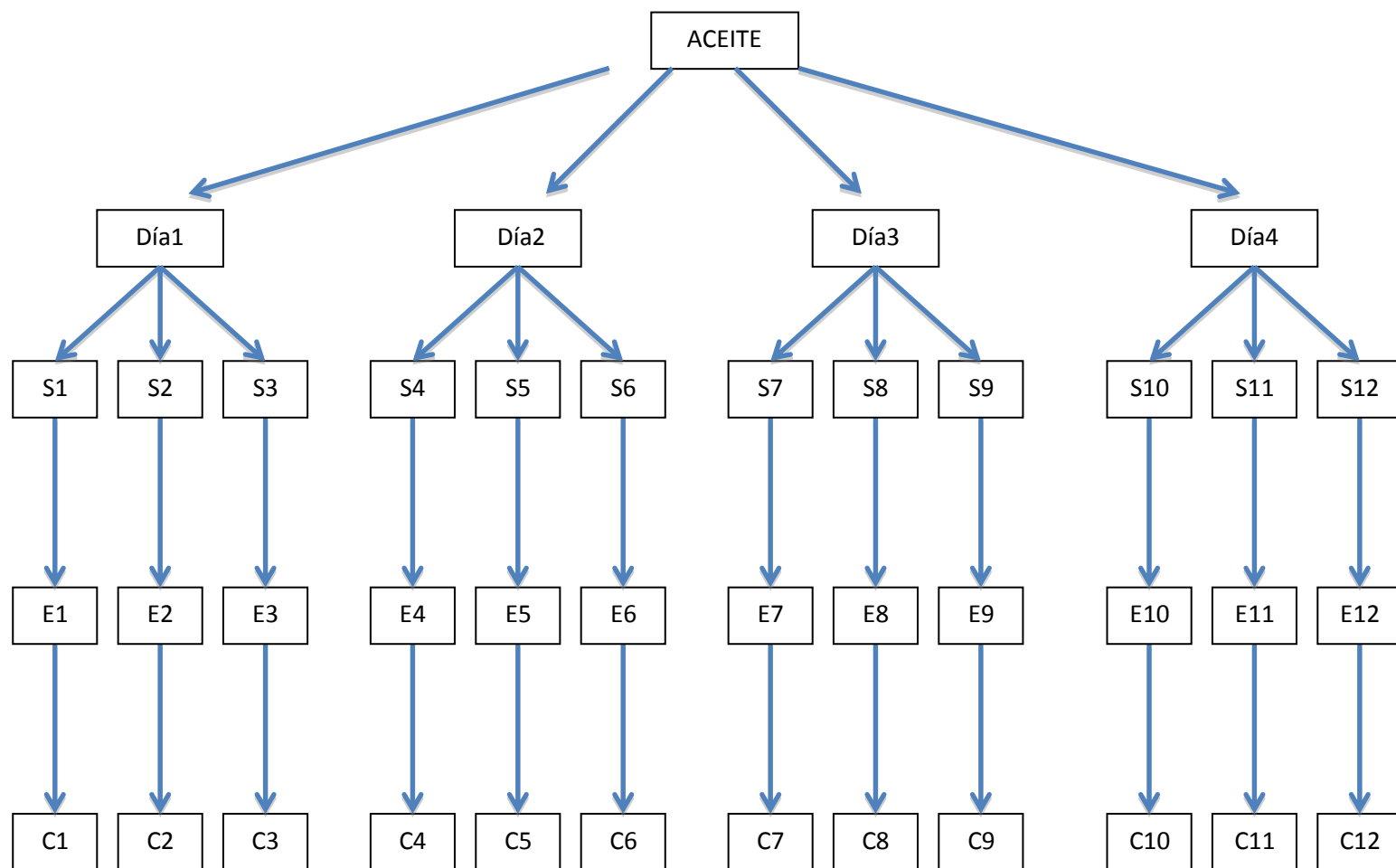
**Figura 8. Diseño experimental en mayonesas**



H=Hidrólisis, EX=extracción de grasa con solvente, S=saponificación, E=esterificación, C=cuantificación de ácidos en el cromatógrafo de gases

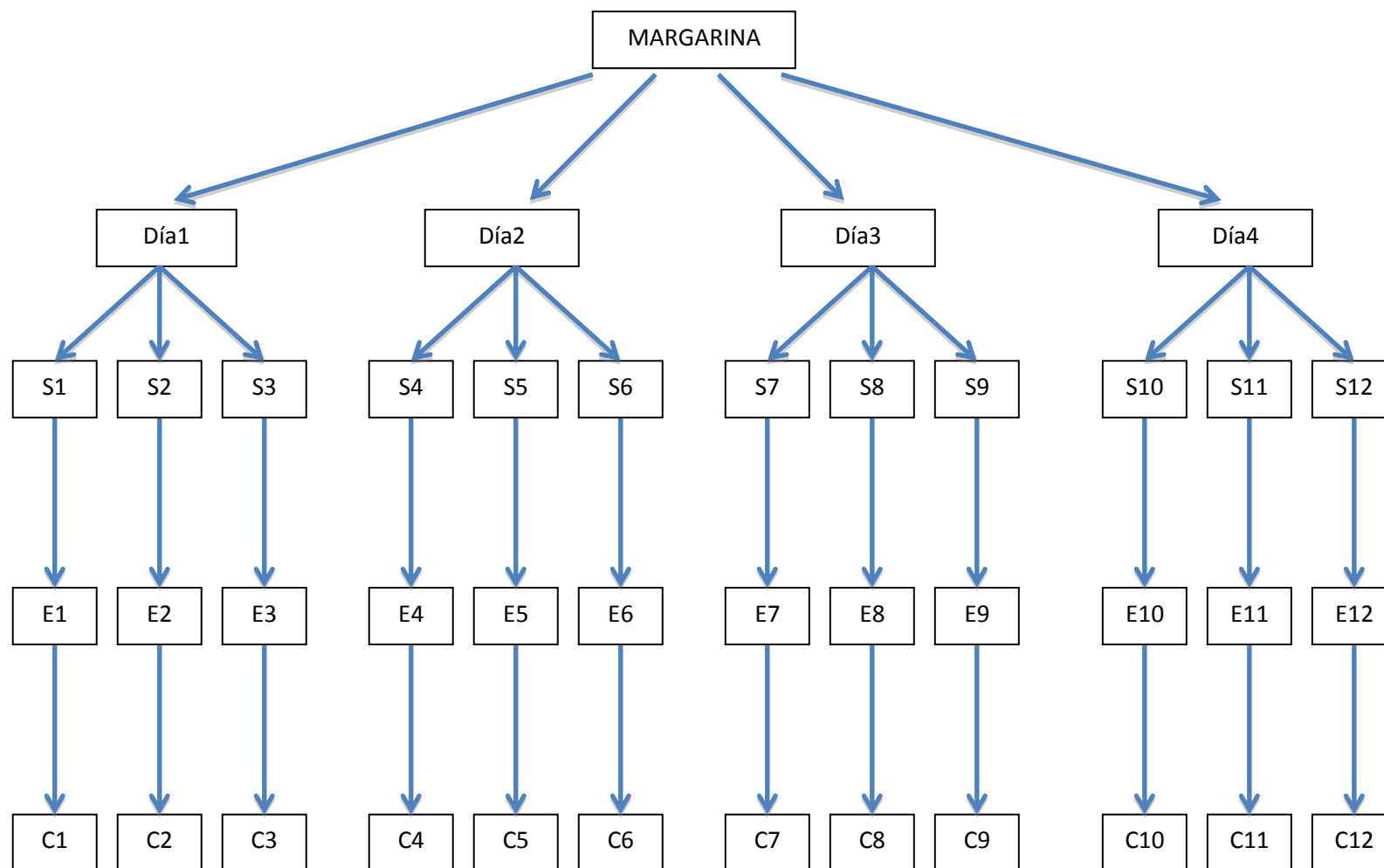
**Figura. 9** Análisis de ácidos grasos en las mayonaises





A=aceite , S=saponificación, E=esterificación, C=cuantificación de ácidos en el cromatógrafo de gases

**Figura. 10** Análisis de ácidos grasos en aceites



MA=margarina, S=saponificación, E=esterificación, C=cuantificación de ácidos en el cromatógrafo de gases

**Figura. 11** Análisis de ácidos grasos en las margarinas

## **2.1. Metodología analítica**

**2.1.1 Procedimiento para extracción de grasas y aceites.** La extracción de grasas y aceites para las muestras a investigar, sólo se realiza para la mayonesa, ya que el aceite y la margarina son enteramente triglicéridos. Para la investigación de las grasas y aceites de la mayonesa, se realiza una extracción por hidrólisis para romper la emulsión y separar las sustancias que se adicionan a este producto para mantener sus cualidades fisicoquímicas y microbiológicas.

### **2.1.1.1 Equipos y materiales**

- Vaso de precipitación V= 100 mL A=  $\pm 50$  mL
- Vaso de precipitación V= 500 mL A=  $\pm 10$  mL
- Estufa de secado
- Fuente de calor
- Probeta V=100 mL A= $\pm 0,01$  mL
- Piceta
- Equipo Soxhlet
- Papel filtro
- Cajas Petri
- Balanza analítica Rango: 0,01 g a 100 g A=  $\pm 0,01$  g
- Embudo

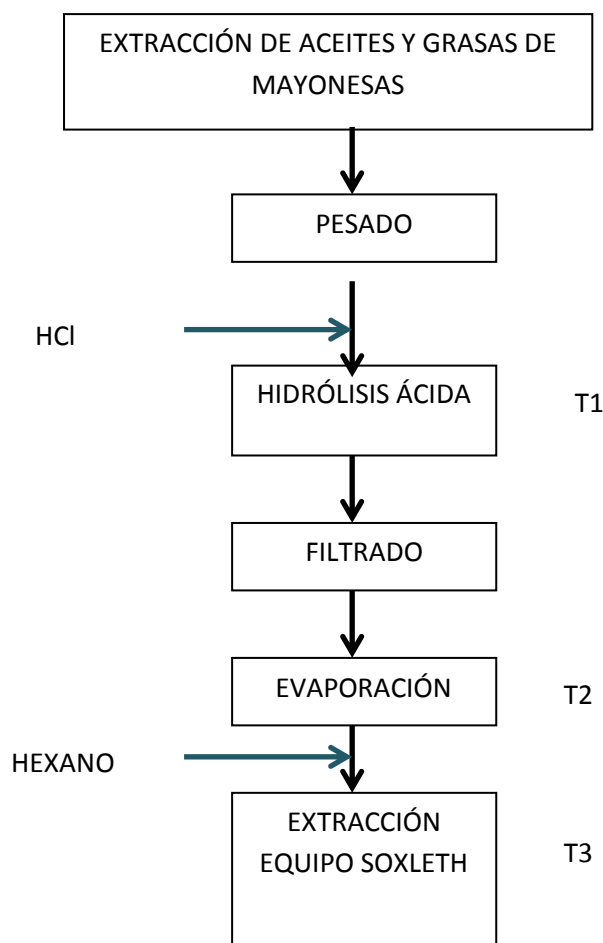
### **2.1.1.2 Reactivos**

- Agua destilada tipo 2
- Ácido clorhídrico 12,1 N (Pureza=37,2%)
- Hexano
- Mayonesa

**2.1.1.3 Procedimiento.** La extracción de grasa en mayonesa se realiza de la siguiente manera:

- Pesar 2 g de mayonesa
- Utilizar una solución de 40% (v/v) de ácido clorhídrico.
- Colocar en una fuente de calor media hora después de la ebullición para separar los componentes.

- Filtrar la solución obtenida con un papel filtro doble (se requiere de esto para evitar la pérdida de grasa por su peso).
- Evaporar mediante la utilización de una estufa a 100 °C para eliminar el exceso de agua.
- Para extraer la grasa colocar en el cartucho de equipo soxhlet el papel filtro, colocar el hexano, y encender el equipo a una temperatura de 250°C durante 2 horas.



**Figura 12. Diagrama de flujo de la extracción de aceites y grasas de la mayonesas**

**2.1.2 Metil-esterificación de aceites y grasas.** Este proceso se realiza tomando una cantidad de muestra directamente sin ningún proceso anterior para los casos de margarinas y aceites; con las mayonesas se realiza la extracción de la aceites y grasas descrita anteriormente y con el extracto se realiza este procedimiento. El fin es formar metil-ésteres de ácidos grasos porque son compuestos más volátiles que los ácidos grasos, lo que permite determinarlos por cromatografía de gases.

### **2.1.2.1 Equipos y materiales**

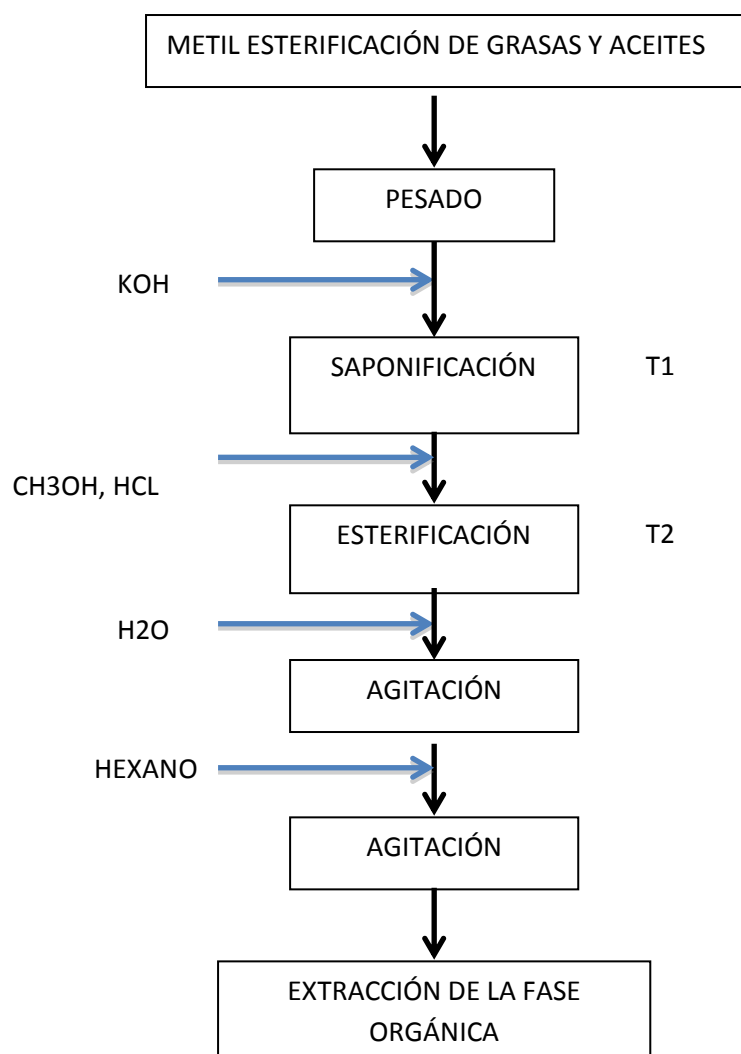
- Baño térmico
- Gradilla
- Pipetas Pasteur
- Viales de 70 mL
- Goma gotero para pipetas Pasteur
- Termómetro Rango= 1-200°C A=  $\pm 1^\circ\text{C}$
- Cromatógrafo de gases Agilent 7890
- Columna capilar HP-88
- Balanza analítica Rango: 0,01 g a 100 g A=  $\pm 0,01$  g
- Viales para cromatografía de gases
- Pipetas volumétricas (Clase A) V=10 mL A=  $\pm 0,01$  mL

### **2.1.2.2 Reactivos**

- Solución de Hidróxido de Potasio 0,5 M en metanol
- Solución de Ácido Clorhídrico-Metanol (1:4 V/V)
- Hexano grado cromatográfico
- Agua destilada tipo 2
- Estándares de ácidos grasos
- Mix de metil ésteres de ácidos grasos en solvente orgánico

### **2.1.2.3 Procedimiento**

- En un vial de 70 mL pesar entre 0,020 a 0,025 g de la grasa y aceites extraídos
- Adicionar 2 mL de la solución de hidróxido de potasio 0,5 M, realizar la reacción en un baño María a ebullición, durante 10 minutos y después dejar enfriar a temperatura ambiente.
- Colocar el vial en el baño María a una temperatura de 50°C, previamente colocando 1 mL de solución de ácido clorhídrico en metanol, durante 25 minutos y dejar enfriar a temperatura ambiente.
- Añadir 3mL de agua destilada y agitar.
- Para extraer los ácidos grasos del vial colocar 10 mL de hexano grado cromatográfico y agitar durante 10 segundos.
- En un vial cromatográfico extraer 1 mL del extracto de hexano, para su posterior lectura en el cromatógrafo.



**Figura 13. Diagrama de flujo de esterificación de aceites y grasas**

## 2.2 Metodología instrumental

Para la determinación de ácidos grasos como metil-ésteres se llevo las muestras de estudio a analizar con el cromatógrafo de gases que a través de la lectura de áreas que mide el equipo se cuantifica la cantidad de cada uno de los ácidos grasos contenidos en las muestras.

El equipo utilizado es un cromatógrafo de gases marca Agilent 7890 con inyector automático de muestras y el software del equipo es EZ CROME.

### 2.2.1 Condiciones cromatográficas

**Tabla 3. Características cromatógrafo de gases**

<b>CROMATÓGRAFO DE GASES</b>	<b>CARACTERÍSTICAS</b>
Cromatógrafo de gases	Agilent 7890
Columna capilar	HP-88 Agilent
Diámetro interno de la columna	0,25 mm
Longitud de la columna	60 m
Película de la columna	88%-cianopropil-aril-polisiloxano, 0,20 m
Inyector	Split/Splitless
Detector	FID

**Tabla 4. Características y condiciones cromatográficas del inyector**

<b>CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS</b>	<b>CARACTERÍSTICAS</b>
Inyector	Split/Splitless
Volumen de la inyección	1 uL
Temperatura del inyector	250°C
Modo:	Split
Proporción de separación (Split ratio)	5:1
Bombeo de la muestra	1 vez

**Tabla 5. Características y condiciones cromatográficas del detector**

CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS	CARACTERÍSTICAS
Temperatura del detector FID	250°C
Gas portador	Nitrógeno
Gas combustible	Hidrógeno
Flujo de hidrógeno en el detector	30 mL/min
Flujo de aire	300 mL/min
Flujo de nitrógeno	30 mL/min

**Tabla 6. Características y condiciones cromatográficas de la columna y horno**

CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS	CARACTERÍSTICAS
Columna	HP-88
Flujo del gas de arrastre(nitrógeno)	0,3801 mL/min
Rampa de temperatura en el horno	El horno inicia desde 140 °C durante 5 min aumentado a razón de 3°C/min hasta 220°C
Tiempo total de corrida	46,67 min

**2.2.2 Calibración del cromatógrafo de gases.** Las muestras para ser analizadas requieren que el equipo se encuentre calibrado con el material de referencia que contiene metil-ésteres de ácidos grasos con concentraciones conocidas.

En la calibración del cromatógrafo de gases se utilizó una mezcla de metil ésteres de ácidos grasos (FAMES 10 mg/mL) disueltos en un solvente orgánico, en diferentes concentraciones de la siguiente manera:

Al material de referencia se diluyó para obtener diferentes niveles de concentración y después se inyectó en el cromatógrafo para su lectura con las condiciones cromatográficas descritas anteriormente.



**Tabla 7. Material de referencia concentración de cada ácido graso como metil-éster**

<b>ÁCIDOS GRASOS COMO METIL ÉSTERES</b>	<b>Concentración analítica [mg/L]</b>
Ácido Oleico (C18:1n9c)	19,3
Ácido Araquídico (C20:0)	1,9
Ácido Behénico (C22:0)	1,9
Ácido Decanoico (C10:0)	3,1
Ácido Eicosenoico (C20:1)	2,0
Ácido Docosenoico (C22:1n9)	1,9
Ácido Heptadecanoico (C17:0)	2,9
Ácido Láurico (C12:0)	6,2
Ácido Linoleico (C18:2n6c)	6,3
Ácido $\alpha$ -Linolénico (C18:3n3)	12,6
Ácido Mirístico (C14:1n9C)	3,2
Ácido Octadecanocio (C8:0)	1,8
Ácido Palmítico (C16:0)	12,7
Ácido Palmitoleico (C16:1n9c)	5,9
Ácido Pentadecanoico (C15:0)	1,9
Ácido Esteárico (C18:0)	6,4
Ácido Tridecanoico (C13:0)	3,1
Ácido Miristoleico (C14:1n9c)	1,9
Ácido Elaídico (C18:1n9t)	2,6

Referencia: Anexo A, Certificado de análisis Supelco

**Tabla 8. Concentraciones de la diluciones del material de referencia**

<b>Diluciones</b>	<b>Alícuota mL</b>	<b>Aforo mL</b>	<b>Dilución</b>	<b>Concentración mg/mL</b>	<b>Concentración %</b>	<b>Concentración ppm</b>
Estándar 1	0,025	1	40	0,250	0,025	250
Estándar 2	0,050	1	20	0,500	0,050	500
Estándar 3	0,100	1	10	1,000	0,100	1000
Estándar 4	0,200	1	5	2,000	0,200	2000

**Tabla 9. Concentración de cada ácido graso en los estándares de calibración**

Nº	ÁCIDO GRASO COMO METIL-ESTER	Estándar 1 (ppm)	Estándar 2 (ppm)	Estándar 3 (ppm)	Estándar 4 (ppm)
1	Caprílico	4,50	9	18	36
2	Cáprico	7,75	15,5	31	62
3	Láurico	15,50	31	62	124
4	Tridecanóico	7,75	15,5	31	62
5	Mirístico	8,00	16	32	64
6	Miristoleico	4,75	9,5	19	38
7	Pentadecanoico	4,75	9,5	19	38
8	Palmítico	31,75	63,5	127	254
9	Palmitoléico	14,75	29,5	59	118
10	Heptadecanóico	7,25	14,5	29	58
11	Esteárico	16,00	32	64	128
12	Elaídico	6,50	13	26	52
13	Oleico	49,00	98	196	392
14	Linoleico	15,75	31,5	63	126
15	Araquídico	4,75	9,5	19	38
16	Eicosanóico	5,00	10	20	40
17	$\alpha$ -Linolénico	31,50	63	126	252
18	Behénico	4,75	9,5	19	38
19	Erúcico	4,75	9,5	19	38

Con la lectura en el cromatógrafo del material de referencia se obtiene cromatogramas que contienen las áreas de los diferentes ácidos de cada estándar.

**Tabla 10. Áreas de cada ácido graso como metil-ester en los estándares de calibración**

Nº	ÁCIDO GRASO METIL ESTER	Área Estándar 1	Área Estándar 1	Área Estándar 1	Área Estándar 1
1	Caprílico	67024	118537	236252	473606
2	Cáprico	114036	195688	403716	811296
3	Láurico	220136	390210	829530	1674830
4	Tridecanoico	113121	201005	420014	851071
5	Mirístico	119290	210960	444207	895475
6	Miristoleico	64954	116041	244951	494306
7	Pentadecanoico	70278	124961	261634	528600
8	Palmítico	475390	847890	1794168	3640061
9	Palmitoleico	203890	364586	768417	1554848
10	Heptadecanoico	107407	187129	401057	811062
11	Esteárico	239943	421607	908799	1841789
12	Elaidico	95831	172299	361558	730079
13	Oleico	688891	1253184	2629629	5321390
14	Linoleico	274252	498544	1041681	2109552
15	Araquídico	72352	125963	274792	551497
16	Eicosanóico	88588	162383	336723	697874
17	$\alpha$ -Linolénico	68977	128049	267174	532544
18	Behénico	72252	123660	272896	545892
19	Erúcico	66131	121063	254527	509860

**2.2.3 Análisis del material de referencia y muestras en el cromatógrafo de gases.** Las muestras se analizan en el equipo de la siguiente manera:

- Colocar la columna HP-88 para ácidos grasos en el cromatógrafo.
- Configurar la columna en el software EZ CHROM Conf.
- Abrir los gases y encender el cromatógrafo.
- Abrir el programa EZCHROM (on-line)
- Colocar los viales del lote a analizar en cada lugar en el porta viales (torreta) y los solventes para la limpieza de la jeringa.
- Abrir el método: Ácidos grasos 080113.met
- Crear una nueva secuencia con el método: Ácidos grasos 080113.met, poniendo el número de vial que corresponde a cada muestra.
- Dar clic en el ícono correr secuencia, en el programa.

#### 2.2.4 Determinación de las áreas en el material de referencia y muestras en el cromatógrafo de gases

- Con el software se elabora los eventos de integración, determinando los tiempos de retención para cada ácido graso y su ventana (tolerancia para mayor o menor en el tiempo de retención).
- Se cuantifica cada área con la herramienta integración manual en los picos del cromatograma.
- Las áreas obtenidas se llevan a calcular, para cada muestra su porcentaje.

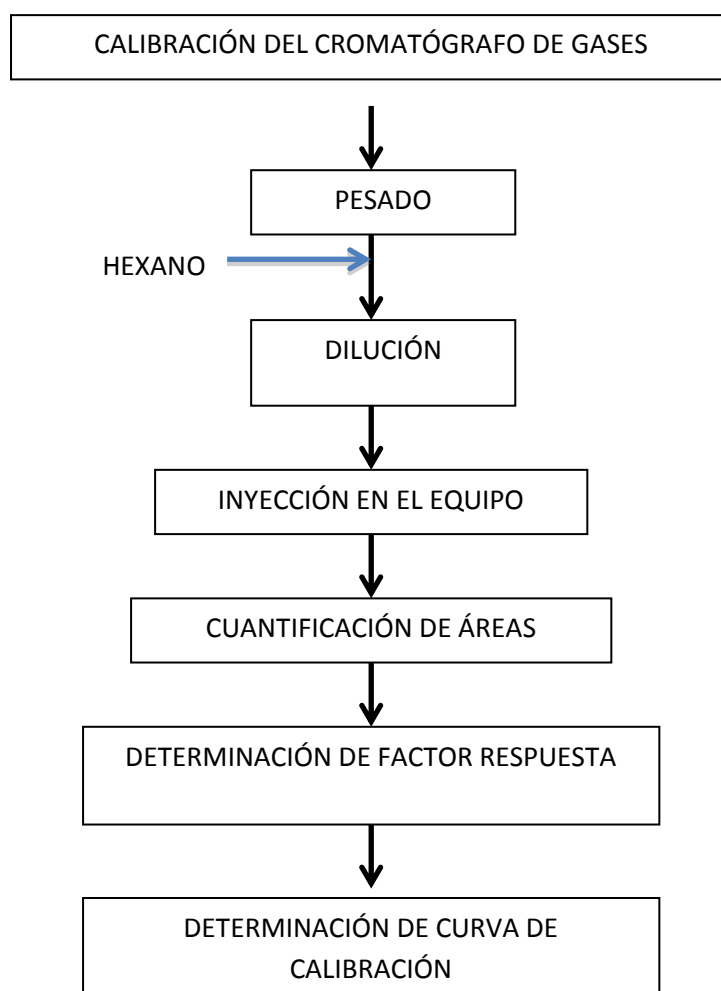
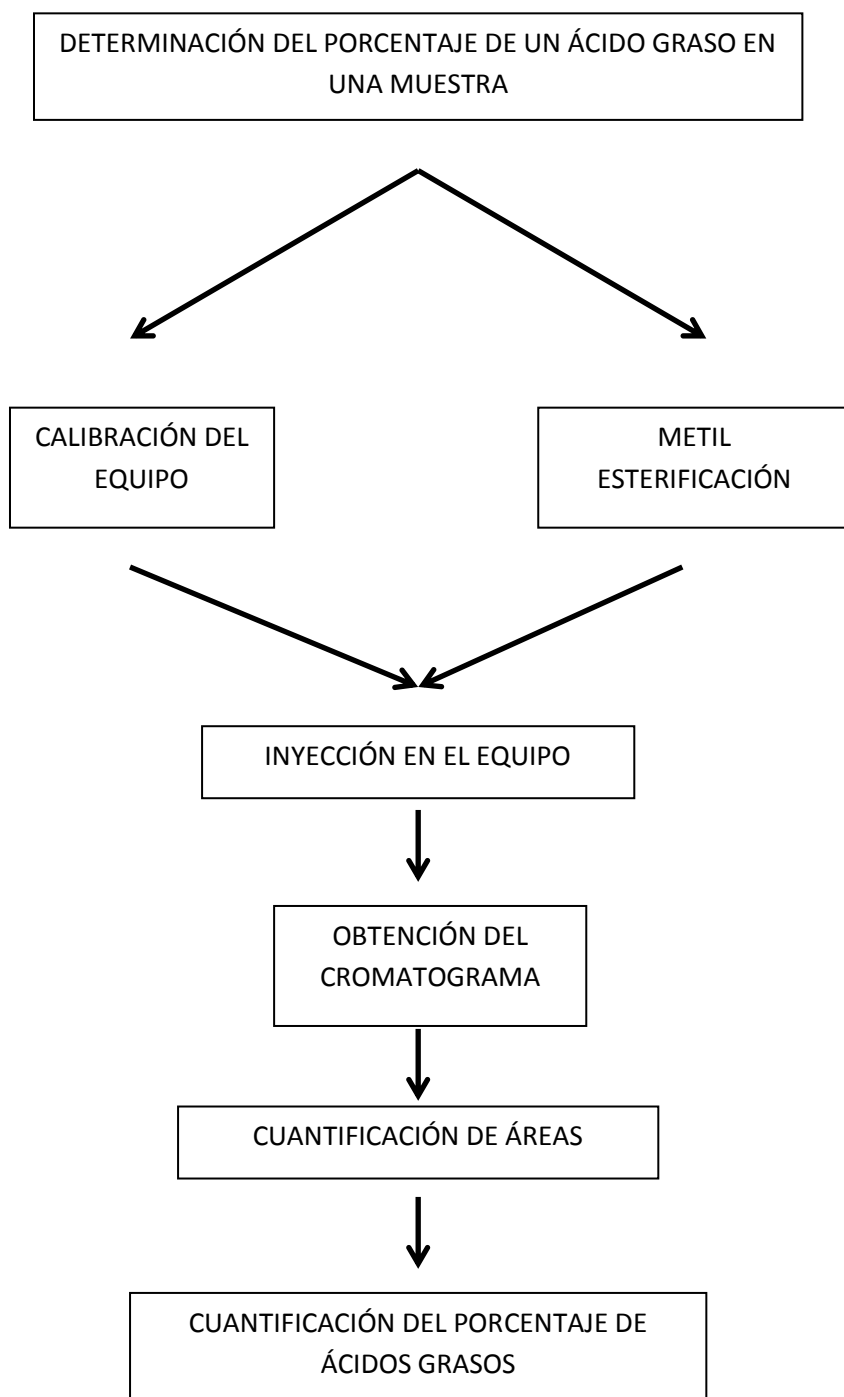


Figura 14. Diagrama de flujo de calibración del cromatógrafo de gases



**Figura 15. Análisis cromatográfico en muestras**

## 2.3 Variables y criterios de aceptación

Es necesario conocer los criterios para aceptar o rechazar los datos obtenidos, es decir si son confiables y están dentro de las especificaciones de normas internacionales.

**Tabla 11. Variables y criterios de aceptación**

VARIABLES	ECUACIONES PARA DETERMINAR LAS VARIABLES		CRITERIOS DE ACEPTACIÓN
Linealidad, Calibración del equipo	Factor respuesta	$FRi = \frac{\text{Área}_i}{\text{Concentración}_i} \left[ \frac{L}{mg} \right]$	Con la construcción de la curva de calibración Área-Concentración, por definición debe ser lineal. El Coeficiente de variación obtenido con el factor respuesta FR, debe ser menor de 10%. (%CV≤10%) El coeficiente de correlación $r^2$ se acepta mayor o igual a 0,995 ( $r^2 \geq 0,995$ )
	Factor respuesta promedio	$FR_{promedio} = \frac{\sum_{i=1}^n FRi}{n}$	
	Desviación estándar	$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (FRi - FR_{promedio})^2}{n - 1}}$	
	Coeficiente de variación o desviación estándar relativas	$\%CV = \frac{\sigma}{FR_{promedio}} \times 100$	
	Coeficiente de correlación	$r^2$ (Cálculo en Excel)	
Precisión	Promedio	$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n xi}{n}$	Con el cálculo de varianzas tanto de repetibilidad y reproducibilidad, se obtienen las desviaciones estándar relativas. La repetibilidad y la reproducibilidad, en términos de coeficiente de variación deben ser menor al 10 % (%CVR≤10% y %CVr≤10%)
	Varianza de repetibilidad o diferencia cuadrática media dentro de los grupos	$DCM_W = S\tau^2$	
	Varianza de reproducibilidad	$SM^2 = S\tau^2 + S\epsilon^2$	
	Coeficiente de variación en porcentaje o desviación estándar relativa de repetibilidad	$CV\tau = \frac{S\tau}{\bar{x}} \times 100$	
	Coeficiente de variación en porcentaje o desviación estándar relativa de reproducibilidad	$CVR = \frac{SR}{\bar{x}} \times 100$	

**Tabla 11. Variables y criterios de aceptación (continuación)**

VARIABLES	ECUACIONES PARA DETERMINAR LAS VARIABLES		CRITERIOS DE ACEPTACIÓN
Exactitud	Porcentaje de recuperación	$\%Re. = \frac{\text{Valor encontrado}}{\text{Valor verdadero o de referencia}} \times 100$	El porcentaje de recuperación, determina la calidad del método para la metil-esterificación de los aceites y grasas. El rango aceptado es entre 70 % y 130%, por tratarse de un método cromatográfico. (70≤%Re≤130)
Ensayo de aptitud	Resultados de intercomparación	Indicador de desempeño z-score	Con un valor satisfactorio, es un valor adicional, para asegurar la calidad de los resultados, evalúa el método de ensayo utilizado.

**2.3.1 Otros criterios de aceptación.** Los resultados obtenidos deben estar en conformidad con lo que se declara en las etiquetas, además, la cantidad obtenida de ácidos grasos debe tener concordancia con las normas internacionales CODEX STAN 210-1999 (código de alimentos de la FAO y OMS) en los aceites; para las margarinas y mayonesas en las normas INEN e internacionales consultadas no especifican las cantidades de ácidos grasos, por lo que se hace una comparación con la referencia a la base de datos del Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Agricultural Research Service United States Department of Agriculture)

**Tabla 12. Descripción de las muestras a analizar de acuerdo a su etiqueta**

	Grasa					Ingredientes	Observaciones Adicionales
	Total [g]	Saturada [g]	Mono-insaturada [g]	Poli-insaturada [g]	Trans [g]		
Mayonesa 1	10	3	6	1	0	Aceite vegetal de soya	-
Mayonesa 2	9	1	ND	ND	0	Aceite vegetal de soya	Contiene omega 3
Mayonesa 3	12	2	ND	ND	0	Aceite vegetal de soya	Contiene omega 3
Margarina 1	11	5	4	2	0	Mezcla de aceites vegetales (Palma, soya y palmiste)	-
Margarina 2	9	5	2	2	0	Mezcla de aceites vegetales de palma (refinados, hidrogenados, mezclas interesterificadas)	-
Margarina 3	11	5	ND	ND	0	Aceite de palma, estearina de palma, aceite de soya, aceite de palmiste	-
Aceite 1	14	2	3	9	0	Aceite de soya	Contiene omega 3
Aceite 2	14	4	ND	ND	0	Oleína de palma roja desodorizada y aceite de canola (colza)	Contiene omega 3 y 6
Aceite 3	14	1	5	8	0	Aceite de girasol	Contiene omega 6

ND= No determinadas en la etiqueta

Nota: 1 porción =14 g

**Tabla 13. Gammas de composición de ácidos grasos de aceites vegetales crudos determinados por CGL de muestras auténticas (expresadas en porcentaje del contenido total de ácidos grasos)**

ÁCIDO GRASO	ACEITE DE PALMA		ACEITE DE ALMENDRA DE PALMA		OLEINA DE PALMA		ESTEARINA DE PALMA		ACEITE DE COLZA		ACEITE DE SOYA		ACEITE DE GIRASOL	
	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX
C18:1	36	44	12	19	39,8	46	15,5	36	8	60	17	30	14	39,4
C18:2	9	12	1	3,5	10	13,5	3	10	11	23	48	59	48,3	74
C18:3	ND	0,5	ND	0,2	ND	0,6	ND	0,5	5	13	4,5	11	ND	0,3

Fuente: CODEX STAN 210-1999 (ver anexo Q)



**Tabla 14. Gammas de composición de ácidos grasos de aceites vegetales crudos determinados por CGL de muestras auténticas (expresadas en porcentaje como metil ésteres de ácidos grasos, utilizando factor de conversión)**

ÁCIDO GRASO	Factor de conversión*	ACEITE DE PALMA		ACEITE DE ALMENDRA DE PALMA		OLEINA DE PALMA		ESTEARINA DE PALMA		ACEITE DE COLZA		ACEITE DE SOYA		ACEITE DE GIRASOL	
		MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX
Ácido oleico	0,9527	37,8	46,2	12,6	19,9	41,8	48,3	16,3	37,8	8,4	63,0	17,8	31,5	14,7	41,4
Ácido linoleico	0,9524	9,4	12,6	1,0	3,7	10,5	14,2	3,1	10,5	11,5	24,1	50,4	61,9	50,7	77,7
Ácido linolénico	0,9520	ND	0,5	ND	0,2	ND	0,6	ND	0,5	5,3	13,7	4,7	11,6	ND	0,3

\*El factor de conversión obtenido de la norma AOAC 996.06 y de la norma Mexicana NMX-F-089-SCFI-2008 (ver anexo R)

**Tabla 15. Cantidad de ácidos grasos presentes en la mayonesa y margarina**

ÁCIDO GRASO	MARGARINA regular 80% grasa g/100g de porción	MAYONESA Aceite de soya g/100g de porción
Ácido eláídico	-	ND-0,3
Ácido oleico	35,54-80,67	9,01-22,5
Ácido linoleico	20,56-24,70	16,05-52,10
Ácido linolénico	19,57-46,77	20-47,03

Fuente: Base de datos Nutrientes para Referencia Estándar del Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Agricultural Research Service United States Department of Agriculture), <http://ndb.nal.usda.gov/>.

### 3. CÁLCULOS Y RESULTADOS

#### 3.1 Determinación de la linealidad, calibración del equipo

##### 3.1.1 Cálculo del factor respuesta en los estándares

A=adimensional

$$C = \left| \frac{mg}{L} \right| = ppm$$

$$FRI = \frac{\text{Área}}{\text{Concentración}} \quad \left[ \frac{L}{mg} \right] \quad (7)$$

##### 3.1.1.1 Cálculo modelo del factor respuesta estándar de ácido elaídico

Concentración estandar 1 del ácido Elaídico=6,50 (ver tabla 9)

Área ácido Elaídico=95831 (ver tabla 10)

$$FR = \frac{95831}{6,50}$$

$$FR=14444,8$$

##### 3.1.2 Cálculo factor respuesta promedio

$$FR_{promedio} = \frac{\sum_{i=1}^n FRI}{n} \quad (8)$$

### 3.1.2.1 Cálculo modelo factor respuesta promedio para ácido Elaídico

$$FR_{promedio} = \frac{14444,8 + 12534,2 + 13105,6 + 13219,4}{4}$$

$$FR_{promedio} = 13326 \quad \left[ \frac{L}{mg} \right]$$

### 3.1.3 Cálculo de la desviación estándar

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (FR_i - FR_{promedio})^2}{n-1}} \quad (9)$$

#### 3.1.3.1 Cálculo modelo de la desviación estándar

$$\sigma = \sqrt{\frac{(14444,8 - 13326)^2 + (12534,2 - 13326)^2 + (13105,6 - 13326)^2 + (13219,4 - 13326)^2}{4-1}}$$

$$\sigma = 803,4$$

### 3.1.4 Cálculo del coeficiente de variación CV

$$\%CV = \frac{\sigma}{FR_{promedio}} \times 100 \quad (10)$$

#### 3.1.4.1 Cálculo modelo del coeficiente de variación CV

$$\%CV = \frac{803,4}{13326} \times 100$$

$$\%CV = 6,03$$

**Tabla 16. Resultados de factor respuesta y el promedio**

Nº	METIL ESTER DE ÁCIDO GRASO	TIEMPO DE RETENCIÓN (min)	FR	FR	FR	FR	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTANDAR	%CV
1	Caprílico	10,8494	11748,4	11627,2	11676,9	11587,1	11660	69,50	0,6
2	Cáprico	12,754	12362,3	11579,1	11731,6	12152,3	11956	363,35	3,0
3	Láurico	15,7245	13070,6	11717,6	12344,5	12639,4	12443	568,16	4,6
4	Tridecanoico	17,5418	13662,6	12266,6	12858,2	12720,5	12877	581,55	4,5
5	Mirístico	19,5428	13087,6	12651,9	13098,3	13005,6	12961	210,12	1,6
6	Miristoleico	21,0524	12086,3	11715,1	12236,9	11990,7	12007	219,58	1,8
7	Pentadecanoico	21,626	13076,4	12686,9	12803,6	12910,6	12869	165,50	1,3
8	Palmitico	23,8854	14199,3	12730,0	13416,6	13559,8	13476	602,81	4,5
9	Palmitoleico	25,1273	13175,9	11713,1	12389,1	12534,8	12453	600,22	4,8
10	Heptadecanoico	25,9212	13473,9	12518,4	13114,0	13243,7	13088	407,55	3,1
11	Esteárico	28,0922	14237,5	12837,3	13558,6	13664,7	13575	574,86	4,2
12	Eláídico	28,8289	14444,8	12533,2	13105,6	13219,4	13326	804,20	6,0
13	Oleico	29,2775	13879,3	12485,6	13105,5	13221,0	13173	571,04	4,3
14	Linoleico	30,8882	17278,0	15391,5	16050,9	16151,3	16218	782,95	4,8
15	Araquídico	32,0339	14548,4	13229,6	13663,6	13904,8	13837	550,68	4,0
16	Eicosenoico	32,7849	17162,0	15728,9	16221,8	16369,9	16371	594,48	3,6
17	Linolénico	33,1482	2138,8	1948,3	1963,0	2019,7	2017	86,56	4,3
18	Behénico	36,2411	14165,3	13474,8	13857,1	13950,6	13862	288,52	2,1
19	Erúxico	37,6091	13090,9	11809,9	12320,1	12965,2	12547	595,98	4,8

### 3.1.5 Calibración para cada ácido graso con su coeficiente de correlación

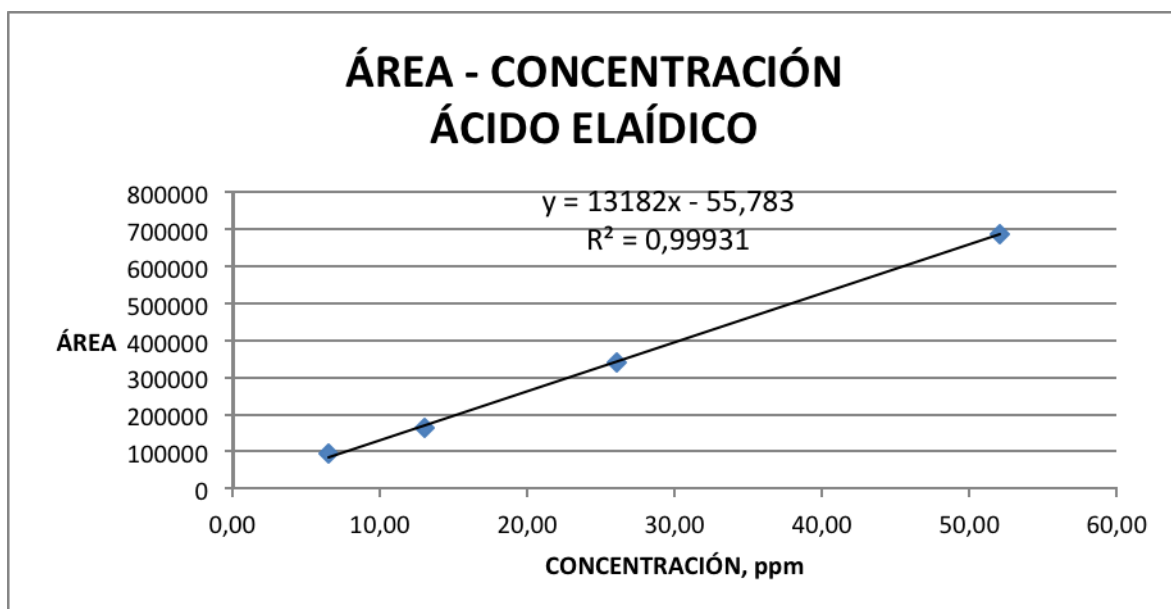


Figura 16. Curva de calibración del ácido elaídico

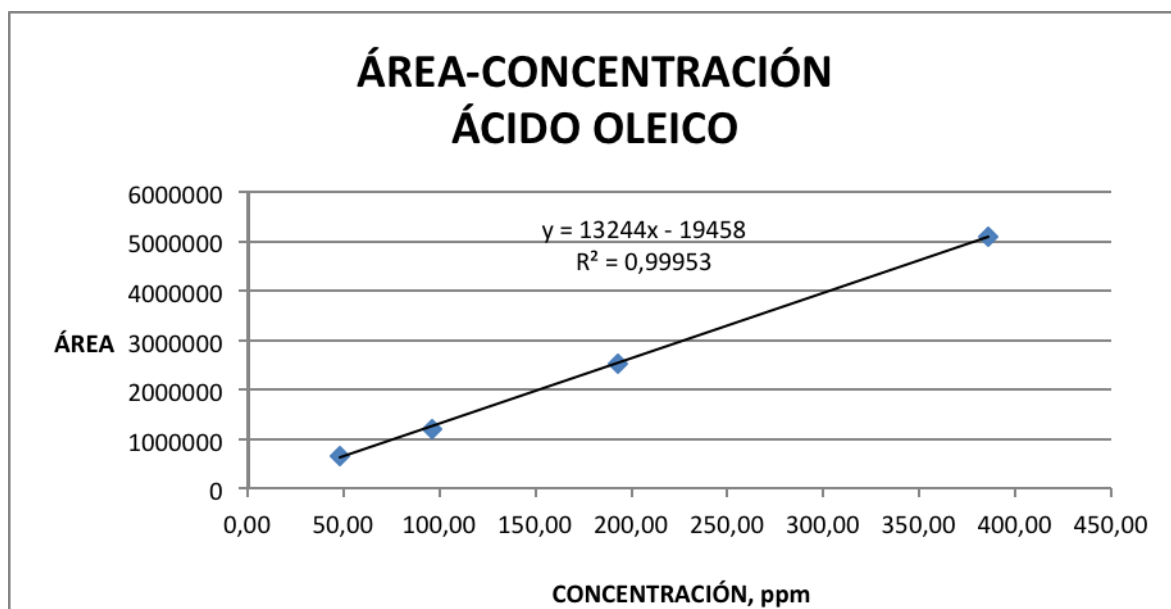


Figura 17. Curva de calibración del ácido oleico

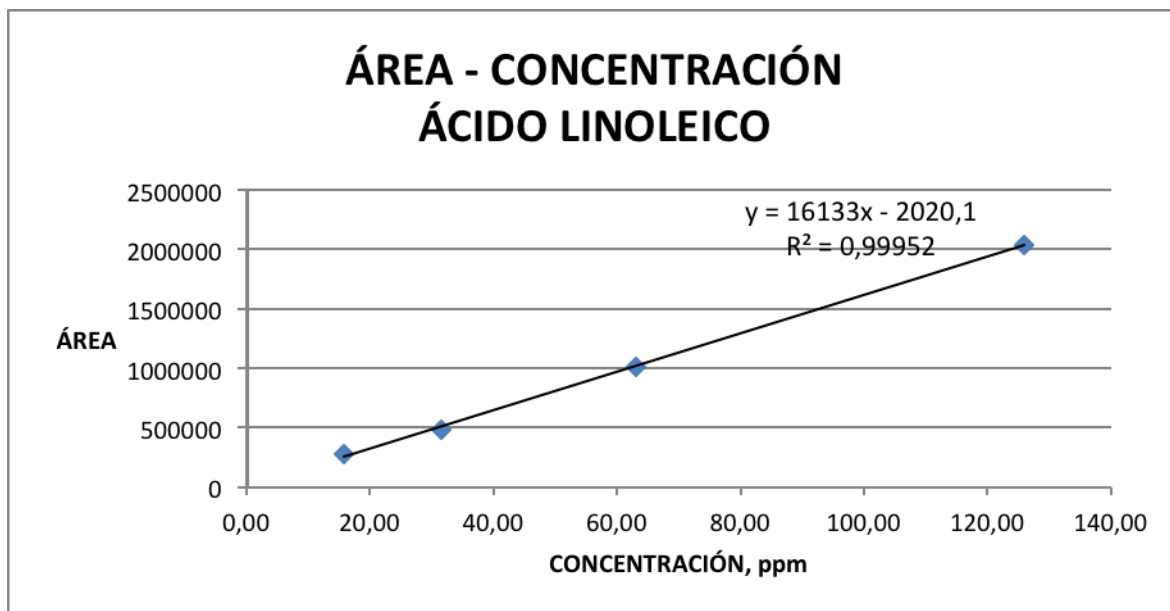


Figura 18. Curva de calibración del ácido linoleico

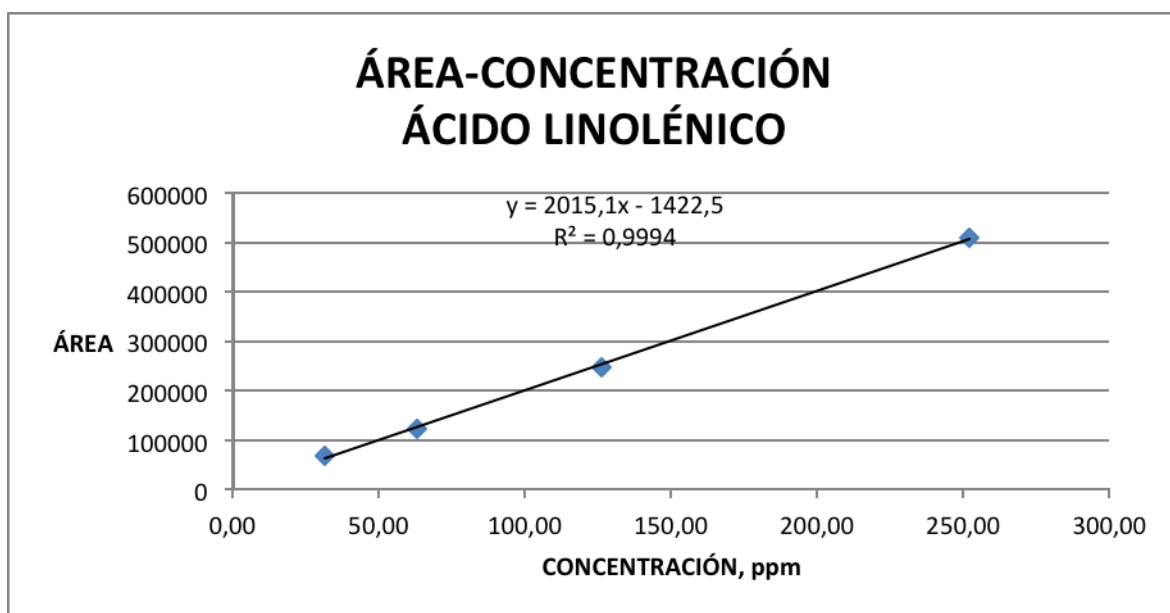


Figura 19. Curva de calibración del ácido linolénico

### 3.2 Cálculos en las muestras

**3.2.1 Porcentaje de concentración del analito.** Con el área cuantificada en el software del cromatógrafo se determina la concentración del analito de la siguiente manera:

Área=Adimensional

Volumen del extracto=mL

Factor respuesta promedio=L/mg

Peso de la muestra=g

$$C = \frac{AREA \times VOLUMEN DEL EXTRACTO}{FACTOR RESPUESTA PROMEDIO \times PESO DE LA MUESTRA} \left[ \frac{mg}{kg} \right] \quad (11)$$

$$\%C = \frac{AREA \times VOLUMEN DEL EXTRACTO}{FACTOR RESPUESTA PROMEDIO \times PESO DE LA MUESTRA \times 10000} \quad (12)$$

Los resultados de las concentraciones son reportados como metil-esteres de los ácidos grasos.

**3.2.1.1 Cálculo modelo del porcentaje de concentración.** Para el ácido eláídico en el aceite 1

Área cuantificada= 25114

Volumen de extracto=10 mL

Factor respuesta promedio para el ácido Eláídico=13326 L/mg

Peso de la muestra=0,0204 g

$$\%C = \frac{25114 \times 10}{13326 \times 0,0204 \times 10000}$$

$$\%C=0,09$$

Ver áreas y pesos de las muestras en anexo N

**Tabla 17. Resultados de porcentaje de concentración de aceite 1**

	REPETICIÓN	DÍA 1 (%)	DÍA 2 (%)	DÍA 3 (%)	DÍA 4 (%)
<b>ÁCIDO ELAÍDICO</b>	1	0,09	0,08	0,08	0,08
	2	0,08	0,08	0,07	0,07
	3	0,08	0,07	0,08	0,08
<b>ÁCIDO OLEICO</b>	1	23,94	27,74	28,29	27,16
	2	26,67	27,51	28,32	27,76
	3	27,59	28,15	29,36	28,12
<b>ÁCIDO LINOLEICO</b>	1	39,75	46,20	47,10	44,99
	2	44,32	45,84	47,32	46,05
	3	45,82	46,87	49,31	46,89
<b>ÁCIDO LINOLÉNICO</b>	1	1,62	1,77	1,84	1,80
	2	1,70	1,80	1,88	1,79
	3	1,81	1,83	1,89	1,86

**Tabla 18. Resultados de porcentaje de concentración de aceite 2**

	REPETICIÓN	DÍA 1 (%)	DÍA 2 (%)	DÍA 3 (%)	DÍA 4 (%)
<b>ÁCIDO ELAÍDICO</b>	1	0,05	0,04	0,04	0,05
	2	0,05	0,04	0,05	0,04
	3	0,04	0,04	0,04	0,04
<b>ÁCIDO OLEICO</b>	1	58,20	58,46	61,99	60,94
	2	57,48	58,27	59,94	58,14
	3	57,12	62,98	60,84	60,32
<b>ÁCIDO LINOLEICO</b>	1	18,13	18,27	18,65	18,43
	2	17,91	18,21	18,75	18,22
	3	17,80	20,89	18,99	18,19
<b>ÁCIDO LINOLÉNICO</b>	1	4,33	4,41	4,49	4,40
	2	4,31	4,41	4,50	4,37
	3	4,29	5,15	4,59	4,41



**Tabla 19. Resultados de porcentaje de concentración de aceite 3**

	REPETICIÓN	DÍA 1 (%)	DÍA 2 (%)	DÍA 3 (%)	DÍA 4 (%)
<b>ÁCIDO ELAÍDICO</b>	1	0,05	0,05	0,05	0,04
	2	0,05	0,04	0,05	0,04
	3	0,04	0,04	0,04	0,04
<b>ÁCIDO OLEICO</b>	1	32,58	34,00	32,56	32,31
	2	32,11	33,11	33,03	32,81
	3	31,90	33,43	33,28	34,40
<b>ÁCIDO LINOLEICO</b>	1	53,65	53,70	53,80	53,39
	2	52,91	54,71	54,54	54,24
	3	52,58	54,82	54,91	53,02
<b>ÁCIDO LINOLÉNICO</b>	1	1,22	1,25	1,21	1,28
	2	1,18	1,27	1,29	1,21
	3	1,16	1,29	1,30	1,23

**Tabla 20. Resultados de porcentaje de concentración de margarina 1**

	REPETICIÓN	DÍA 1 (%)	DÍA 2 (%)	DÍA 3 (%)	DÍA 4 (%)
<b>ÁCIDO ELAÍDICO</b>	1	1,58	1,45	1,44	1,43
	2	1,61	1,41	1,47	1,43
	3	1,55	1,62	1,41	1,45
<b>ÁCIDO OLEICO</b>	1	26,42	29,41	28,55	28,51
	2	27,13	28,32	30,01	27,70
	3	29,86	32,07	29,79	28,18
<b>ÁCIDO LINOLEICO</b>	1	16,09	18,24	17,72	17,59
	2	16,17	17,51	18,54	17,04
	3	18,40	19,81	18,51	17,33
<b>ÁCIDO LINOLÉNICO</b>	1	0,99	1,00	0,97	0,96
	2	0,86	0,95	1,00	0,97
	3	1,00	1,09	0,73	0,95

**Tabla 21. Resultados de porcentaje de concentración de margarina 2**

	REPETICIÓN	DÍA 1 (%)	DÍA 2 (%)	DÍA 3 (%)	DÍA 4 (%)
<b>ÁCIDO ELAÍDICO</b>	1	0,07	0,08	0,07	0,07
	2	0,08	0,08	0,07	0,07
	3	0,06	0,07	0,08	0,06
<b>ÁCIDO OLEICO</b>	1	17,49	19,31	17,76	17,25
	2	18,18	16,96	17,93	17,86
	3	16,09	17,69	17,43	18,31
<b>ÁCIDO LINOLEICO</b>	1	16,53	18,26	16,78	16,30
	2	17,17	16,04	16,84	16,84
	3	15,33	16,73	16,41	17,29
<b>ÁCIDO LINOLÉNICO</b>	1	0,78	0,91	0,73	0,78
	2	0,81	0,78	0,82	0,75
	3	0,75	0,79	0,77	0,76

**Tabla 22. Resultados de porcentaje de concentración de margarina 3**

	REPETICIÓN	DÍA 1 (%)	DÍA 2 (%)	DÍA 3 (%)	DÍA 4 (%)
<b>ÁCIDO ELAÍDICO</b>	1	0,12	0,13	0,13	0,12
	2	0,10	0,10	0,11	0,11
	3	0,10	0,12	0,11	0,11
<b>ÁCIDO OLEICO</b>	1	30,29	32,14	31,46	31,36
	2	31,65	30,69	31,60	31,07
	3	28,82	32,09	30,98	32,06
<b>ÁCIDO LINOLEICO</b>	1	11,31	11,99	11,78	11,68
	2	11,67	11,44	11,78	11,57
	3	10,74	11,98	11,52	11,95
<b>ÁCIDO LINOLÉNICO</b>	1	0,85	0,93	0,93	0,96
	2	0,67	0,84	0,94	0,87
	3	0,92	0,90	0,90	0,93

**Tabla 23. Resultados de porcentaje de concentración de mayonesa 1**

	REPETICIÓN	DÍA 1 (%)	DÍA 2 (%)	DÍA 3 (%)	DÍA 4 (%)
<b>ÁCIDO ELAÍDICO</b>	1	0,06	0,07	0,06	0,07
	2	0,06	0,06	0,07	0,06
	3	0,07	0,07	0,07	0,07
<b>ÁCIDO OLEICO</b>	1	30,26	31,61	28,61	31,86
	2	32,75	32,32	30,07	27,01
	3	30,49	33,18	29,97	25,82
<b>ÁCIDO LINOLEICO</b>	1	47,37	47,76	37,34	42,30
	2	50,93	45,37	40,15	41,15
	3	47,43	37,84	42,11	45,31
<b>ÁCIDO LINOLÉNICO</b>	1	1,98	1,98	1,79	2,03
	2	2,05	2,08	1,82	1,75
	3	1,99	2,15	1,88	1,65

**Tabla 24. Resultados de porcentaje de concentración de mayonesa 2**

	REPETICIÓN	DÍA 1 (%)	DÍA 2 (%)	DÍA 3 (%)	DÍA 4 (%)
<b>ÁCIDO ELAÍDICO</b>	1	0,06	0,06	0,06	0,07
	2	0,07	0,07	0,05	0,07
	3	0,06	0,07	0,07	0,07
<b>ÁCIDO OLEICO</b>	1	28,14	26,66	26,52	27,12
	2	28,57	24,54	26,77	29,14
	3	27,93	27,40	27,81	27,69
<b>ÁCIDO LINOLEICO</b>	1	45,37	42,43	37,51	43,19
	2	46,37	43,79	45,61	41,90
	3	45,43	43,74	43,28	43,55
<b>ÁCIDO LINOLÉNICO</b>	1	1,76	1,60	1,61	1,41
	2	1,77	1,46	1,66	1,64
	3	1,78	1,60	1,72	1,51

**Tabla 25. Resultados de porcentaje de concentración de mayonesa 3**

	REPETICIÓN	DÍA 1 (%)	DÍA 2 (%)	DÍA 3 (%)	DÍA 4 (%)
<b>ÁCIDO ELAÍDICO</b>	1	0,06	0,06	0,05	0,06
	2	0,06	0,07	0,06	0,06
	3	0,06	0,07	0,07	0,07
<b>ÁCIDO OLEICO</b>	1	28,94	36,23	30,73	29,36
	2	28,79	28,24	29,02	26,89
	3	28,29	28,09	27,17	27,03
<b>ÁCIDO LINOLEICO</b>	1	34,27	34,48	33,78	34,48
	2	34,45	34,02	32,30	29,07
	3	31,98	33,85	34,45	29,68
<b>ÁCIDO LINOLÉNICO</b>	1	1,80	2,18	1,88	1,82
	2	1,79	1,77	1,76	1,70
	3	1,39	1,76	1,60	1,65

### 3.3 Determinación de la precisión

**3.3.1 Determinación de repetibilidad y reproducibilidad.** A través de la herramienta de Excel análisis de varianza, se cuantificó el coeficiente de variación porcentual para repetibilidad y reproducibilidad.

Donde:

$\bar{x}$ = promedio

n es en numero de muestras

$DCM_W$  es la diferencia cuadrática media dentro de los grupos

$DCM_B$  es la diferencia cuadrática media entre grupos

$Sr^2$ =Varianza de repetibilidad

$Sl^2$ =Varianza entre días

$SR^2$ =Varianza de reproducibilidad

S=Desviación estándar

%CV= Coeficiente de variación en porcentaje o desviación estándar relativa

$$DCM_{\text{eff}} = S_r^2 \quad (13)$$

$$Sf^2 = \frac{DCM_E - DCM_R}{n} \quad (14)$$

$$SR^2 = S_r^2 + Sf^2 \quad (15)$$

$$S_r = \sqrt{SR^2} \quad (16)$$

$$SR = \sqrt{SR^2} \quad (17)$$

$$CVR = \frac{S_r}{x} * 100 \quad (18)$$

$$CVR = \frac{SR}{x} * 100 \quad (19)$$

### 3.3.1 Cálculo modelo del promedio en la muestra de aceite 1 en el ácido eláídico

$$\bar{x} = \frac{0,09 + 0,08 + 0,08 + 0,08 + 0,08 + 0,07 + +0,08 + 0,07 + 0,08 + 0,08 + 0,07 + 0,08}{12}$$

$$\bar{x} = 0,08$$

### 3.3.2 Cálculo modelo de $Sf^2$ varianza entre días

$$Sf^2 = \frac{(2,44E-05) - (3,48E-05)}{3}$$

$$Sf^2 = 1,32 E - 5$$

### 3.3.3 Cálculo modelo de $S_R^2$ varianza de reproducibilidad

$$DCM_W = S_r^2 = 3,48E - 5$$

$$S_R^2 = (3,48E - 5) + (1,32E - 5)$$

$$S_R^2 = 4,80 E - 5$$

### 3.3.4 Cálculo modelo de desviación estándar de repetibilidad y reproducibilidad

$$S_r = \sqrt{3,48E - 5}$$

$$S_r = 0,006$$

$$S_R = \sqrt{4,80E - 5}$$

$$S_R = 0,007$$

### 3.3.5 Cálculo modelo del coeficiente de variación de repetibilidad y reproducibilidad

$$CVR = \frac{9,896}{u_{OH}} \times 100$$

$$CVR = 7,698$$

$$CVR = \frac{9,897}{u_{OH}} \times 100$$

$$CVR = 9,037$$

**Tabla 26. Resultados promedio en porcentaje de las muestras de aceite**

<b>ÁCIDO GRASO</b>	<b>ACEITE 1</b>	<b>ACEITE 2</b>	<b>ACEITE 3</b>
	<b>PROMEDIO</b>	<b>PROMEDIO</b>	<b>PROMEDIO</b>
Ácido elaídico	0,08	0,04	0,05
Ácido oleico	27,55	59,55	32,96
Ácido linoleico	45,87	18,54	53,86
Ácido linolénico	1,80	4,47	1,24

**Tabla 27. Resultados promedio en porcentaje de las muestras de margarinas**

<b>ÁCIDO GRASO</b>	<b>MARGARINA 1</b>	<b>MARGARINA 2</b>	<b>MARGARINA 3</b>
	<b>PROMEDIO</b>	<b>PROMEDIO</b>	<b>PROMEDIO</b>
Ácido elaídico	1,49	0,07	0,11
Ácido oleico	29,83	17,69	31,15
Ácido linoleico	17,75	16,71	11,63
Ácido linolénico	0,96	0,79	0,89

**Tabla 28. Resultados promedio en porcentaje de las muestras de mayonesas**

<b>ÁCIDO GRASO</b>	<b>MAYONESA 1</b>	<b>MAYONESA 2</b>	<b>MAYONESA 3</b>
	<b>PROMEDIO</b>	<b>PROMEDIO</b>	<b>PROMEDIO</b>
Ácido elaídico	0,07	0,07	0,06
Ácido oleico	30,33	27,36	29,07
Ácido linoleico	43,76	43,51	33,07
Ácido linolénico	1,93	1,63	1,80

**Tabla 29. Resultado ANOVA aceite 1**

<b>ÁCIDO GRASO</b>	$DCM_B$	$DCM_w$	$\frac{(DCM_B - DCM_w)^2}{n}$	SR2	Sr	SR	%CVr	%CVR	F	F CRÍTICO
Elaídico	7,44E-05	3,48E-05	1,317E-05	4,80E-05	0,006	0,007	7,70	9,04	2,13	4,07
Oleico	3,503	1,076	0,809	1,885	1,037	1,373	3,76	4,98	3,26	
Linoleico	10,995	3,160	2,612	5,771	1,778	2,402	3,88	5,24	3,48	
Linolénico	0,013	0,003	0,003	0,006	0,056	0,079	3,09	4,40	4,09	

**Tabla 30. Resultados ANOVA aceite 2**

<b>ÁCIDO GRASO</b>	$DCM_B$	$DCM_w$	$\frac{(DCM_B - DCM_w)^2}{n}$	SR2	Sr	SR	%CVr	%CVR	F	F CRÍTICO
Elaídico	1,68E-05	6,92E-06	3,28E-06	1,02E-05	0,003	0,003	6,05	7,34	2,42	4,07
Oleico	5,865	2,661	1,068	3,729	1,631	1,931	2,74	3,24	2,20	
Linoleico	0,833	0,603	0,077	0,680	0,777	0,825	4,19	4,45	1,38	
Linolénico	0,068	0,046	0,007	0,054	0,216	0,231	4,82	5,18	1,46	



**Tabla 31. Resultados ANOVA aceite 3**

ÁCIDO GRASO	DCM <sub>B</sub>	DCM <sub>w</sub>	$\frac{(DCM_B - DCM_w)}{n}$	SR2	Sr	SR	%CV <sub>r</sub>	%CVR	F	F CRÍTICO
Elaídico	1,61E-05	2,25E-05	-2,14E-06	2,03E-05	0,005	0,005	10,39	9,88	0,71	4,07
Oleico	0,936	0,411	0,175	0,586	0,641	0,766	1,95	2,32	2,28	
Linoleico	1,371	0,349	0,340	0,690	0,591	0,831	1,10	1,54	3,92	
Linolénico	4,36E-03	1,23E-03	1,04E-03	2,28E-03	0,035	0,048	2,83	3,84	3,54	

**Tabla 32. Resultados ANOVA margarina 1**

ÁCIDO GRASO	DCM <sub>B</sub>	DCM <sub>w</sub>	$\frac{(DCM_B - DCM_w)}{n}$	SR2	Sr	SR	%CV <sub>r</sub>	%CVR	F	F CRÍTICO
Elaídico	1,33E-02	3,442E-03	3,30E-03	0,007	0,059	0,082	3,95	5,52	3,87	4,07
Oleico	3,152	1,952	0,400	2,352	1,397	1,534	4,85	5,32	1,62	
Linoleico	1,774	0,849	0,308	1,157	0,921	1,076	5,19	6,06	2,09	
Linolénico	0,0064	0,0080	-0,0005	0,007	0,090	0,087	9,38	9,05	0,80	

**Tabla 33. Resultados ANOVA margarina 2**

ÁCIDO GRASO	DCM <sub>B</sub>	DCM <sub>w</sub>	$\frac{(DCM_B - DCM_w)}{n}$	SR2	Sr	SR	%CV <sub>r</sub>	%CVR	F	F CRÍTICO
Elaídico	4,92E-05	3,94E-05	3,30E-06	0,00004	0,006	0,007	8,71	9,07	1,25	4,07
Oleico	0,294	0,730	-0,145	0,585	0,854	0,765	4,83	4,32	0,40	
Linoleico	0,238	0,617	-0,126	0,490	0,785	0,700	4,70	4,19	0,39	
Linolénico	0,0023	0,0022	0,00003	0,002	0,047	0,047	5,97	6,02	1,05	

**Tabla 34. Resultados ANOVA margarina 3**

ÁCIDO GRASO	DCM <sub>B</sub>	DCM <sub>w</sub>	$\frac{(DCM_B - DCM_w)}{n}$	SR2	Sr	SR	%CV <sub>r</sub>	%CVR	F	F CRÍTICO
Elaídico	6,08E-05	1,03E-04	-1,39E-05	0,000	0,010	0,009	8,97	8,34	0,59	4,07
Oleico	1,193	0,760	0,144	0,90440	0,872	0,951	2,80	3,05	1,57	
Linoleico	0,197	0,095	0,034	0,129	0,308	0,359	2,65	3,09	2,08	
Linolénico	0,0073	0,0054	0,0006	0,006	0,073	0,078	8,30	8,77	1,35	

**Tabla 35. Resultados ANOVA mayonesa 1**

ÁCIDO GRASO	DCM <sub>B</sub>	DCM <sub>w</sub>	$\frac{(DCM_B - DCM_w)}{n}$	SR2	Sr	SR	%CV <sub>r</sub>	%CVR	F	F CRÍTICO
Elaídico	1,27E-05	3,95E-05	-8,92E-06	3,06E-05	6,29E-03	5,53E-03	9,50	8,36	0,32	4,07
Oleico	9,885	3,355	2,177	5,532	1,832	2,352	6,04	7,76	2,95	
Linoleico	39,029	10,336	9,564	19,901	3,215	4,461	7,35	10,20	3,78	
Linolénico	0,0490	0,0125	0,0122	0,0247	0,1119	0,1571	5,80	8,14	3,91	

**Tabla 36. Resultados ANOVA mayonesa 2**

ÁCIDO GRASO	DCM <sub>B</sub>	DCM <sub>w</sub>	$\frac{(DCM_B - DCM_w)}{n}$	SR2	Sr	SR	%CV <sub>r</sub>	%CVR	F	F CRÍTICO
Elaídico	6,29E-05	4,71E-05	5,26E-06	5,23E-05	6,86E-03	7,23E-03	10,45	11,02	1,34	4,07
Oleico	2,572	0,964	0,536	1,500	0,982	1,225	3,59	4,48	2,67	
Linoleico	7,222	4,765	0,819	5,584	2,183	2,363	5,02	5,43	1,52	
Linolénico	0,039	0,006	0,011	0,017	0,076	0,129	4,69	7,95	6,62	

**Tabla 37. Resultados ANOVA mayonesa 3**

ÁCIDO GRASO	DCM <sub>B</sub>	DCM <sub>w</sub>	$\frac{(DCM_B - DCM_w)}{n}$	SR2	Sr	SR	% CV <sub>r</sub>	% CV <sub>r</sub>	F	F CRÍTICO
Elaídico	4,20E-05	3,40E-05	2,66E-06	3,67E-05	5,83E-03	6,06E-03	9,25	9,60	1,23	4,07
Oleico	5,053	6,716	-0,554	6,161	2,591	2,482	8,92	8,54	0,75	
Linoleico	5,509	2,995	0,838	3,833	1,731	1,958	5,23	5,92	1,84	
Linolénico	0,094	0,037	0,019	0,056	0,192	0,236	10,67	13,14	2,55	

### 3.4 Determinación de la exactitud

**3.4.1 Cálculo del porcentaje de recuperación.** Porcentaje de recuperación se realiza a el material de referencia.

$$\%Recuperación = \frac{\text{Valor encontrado}}{\text{Valor verdadero o de referencia}} * 100 \quad (20)$$

#### 3.4.1.1 Cálculo modelo del porcentaje de recuperación para ácido elaídico nivel 1

$$\%Recuperación = \frac{117,78}{100} * 100$$

$$\%Recuperación = 117,78$$

Ver las áreas obtenidas en el anexo N

**Tabla 38. Porcentaje de recuperación ácido elaídico**

NIVEL	PESO, mg	%
Nivel 1	5	117,78
Nivel 2	10	113,19
Nivel 3	20	111,20

**Tabla 39. Porcentaje de recuperación ácido oleico**

NIVEL	PESO, mg	%
Nivel 1	5	102,20
Nivel 2	10	108,04
Nivel 3	20	107,12

**Tabla 40. Porcentaje de recuperación ácido linoleico**

NIVEL	PESO, mg	%
Nivel 1	5	88,14
Nivel 2	10	111,07
Nivel 3	20	92,38

**Tabla 41. Porcentaje de recuperación ácido linolénico**

NIVEL	PESO, mg	%
Nivel 1	5	75,32
Nivel 2	10	77,10
Nivel 3	20	104,60

### **3.5 Muestras analizadas**

Se analizó un conjunto de muestras de aceite (n=36) , margarinas (n=36) y mayonesas (n=36), de terminó el promedio y la desviación estándar.

**3.5.1 Cálculo del promedio de las muestras.** Ver tablas 26, 27 y 28 promedios de cada muestra de aceite, margarina y mayonesa.

**3.5.2 Cálculo de la desviación estándar de las muestras.** Para las muestras de cada aceite, margarina y mayonesa se realiza el siguiente cálculo:

De la ecuación 3

$$\text{Desviación estándar } \sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{N-1}} \quad (3)$$

donde:

$\bar{x}$  es el promedio

N= número de muestras

**3.5.2.1 Cálculo modelo de la desviación estándar en muestras.** Para el aceite 1, en ácido eláídico

Con los resultados obtenidos del ácido eláídico del aceite 1 (ver tabla 17) y el promedio (ver tabla 26)

$$\sigma = \sqrt{\frac{(0,09 - 0,08)^2 + (0,08 - 0,08)^2 + (0,08 - 0,08)^2 + (0,08 - 0,08)^2 + (0,08 - 0,08)^2 + (0,07 - 0,08)^2 + (0,08 - 0,08)^2 + (0,07 - 0,08)^2 + (0,08 - 0,08)^2 + (0,08 - 0,08)^2 + (0,07 - 0,08)^2 + (0,08 - 0,08)^2}{12 - 1}}$$

$$\sigma = 0,01$$

**Tabla 42. Resultados en las muestras de aceites**

<b>ÁCIDO GRASO</b>	<b>ACEITE 1 (contiene Aceite de soya)</b>		<b>ACEITE 2 (contiene Aceite de colza y oleína de palma)</b>		<b>ACEITE 3 (contiene Aceite de girasol)</b>	
	<b>PROMEDIO EN PORCENTAJE</b>	<b>DESVIACIÓN ESTANDAR</b>	<b>PROMEDIO EN PORCENTAJE</b>	<b>DESVIACIÓN ESTANDAR</b>	<b>PROMEDIO EN PORCENTAJE</b>	<b>DESVIACIÓN ESTANDAR</b>
Ácido eláídico	0,08	0,01	0,04	0,003	0,05	0,01
Ácido oleico	27,55	1,34	59,55	1,88	32,96	0,75
Ácido linoleico	45,87	2,30	18,54	0,82	53,86	0,79
Ácido linolénico	1,80	0,08	4,47	0,23	1,24	0,05

**Tabla 43. Resultados en las muestras de margarinas**

<b>ÁCIDO GRASO</b>	<b>MARGARINA 1</b> (Mezcla de aceites vegetales Palma, soya y palmiste)		<b>MARGARINA 2</b> Mezcla de aceites vegetales de palma (refinados, hidrogenados, mezclas interesterificadas)		<b>MARGARINA 3</b> (Aceite de palma, estearina de palma, aceite de soya, aceite de palmiste)	
	<b>PROMEDIO EN PORCENTAJE</b>	<b>DESVIACIÓN ESTANDAR</b>	<b>PROMEDIO EN PORCENTAJE</b>	<b>DESVIACIÓN ESTANDAR</b>	<b>PROMEDIO EN PORCENTAJE</b>	<b>DESVIACIÓN ESTANDAR</b>
Ácido eláídico	1,49	0,08	0,07	0,01	0,11	0,01
Ácido oleico	28,83	1,51	17,69	0,78	31,15	0,93
Ácido linoleico	17,75	1,05	16,71	0,72	11,63	0,36
Ácido linolénico	0,96	0,09	0,79	0,05	0,89	0,06

**Tabla 44. Resultados en muestras de mayonesas**

<b>ÁCIDO GRASO</b>	<b>MAYONESA 1</b> (contiene Aceite de soya)		<b>MAYONESA 2</b> (contiene Aceite de soya)		<b>MAYONESA 3</b> (contiene Aceite de soya)	
	<b>PROMEDIO EN PORCENTAJE</b>	<b>DESVIACIÓN ESTANDAR</b>	<b>PROMEDIO EN PORCENTAJE</b>	<b>DESVIACIÓN ESTANDAR</b>	<b>PROMEDIO EN PORCENTAJE</b>	<b>DESVIACIÓN ESTANDAR</b>
Ácido eláídico	0,07	0,01	0,07	0,01	0,06	0,01
Ácido oleico	30,33	2,27	27,36	1,18	29,07	2,50
Ácido linoleico	43,76	4,26	43,51	2,33	33,07	1,92
Ácido linolénico	1,93	0,15	1,63	0,12	1,80	0,23

## CONTENIDO PORCENTUAL DE ÁCIDO ELAÍDICO EN ACEITES

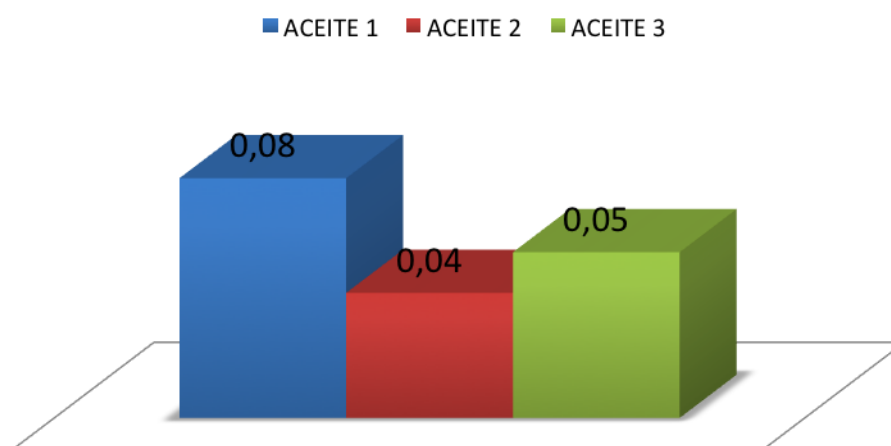


Figura 20. Comparación de resultados del ácido elaídico en aceites

## CONTENIDO DE ÁCIDO OLEICO EN ACEITES

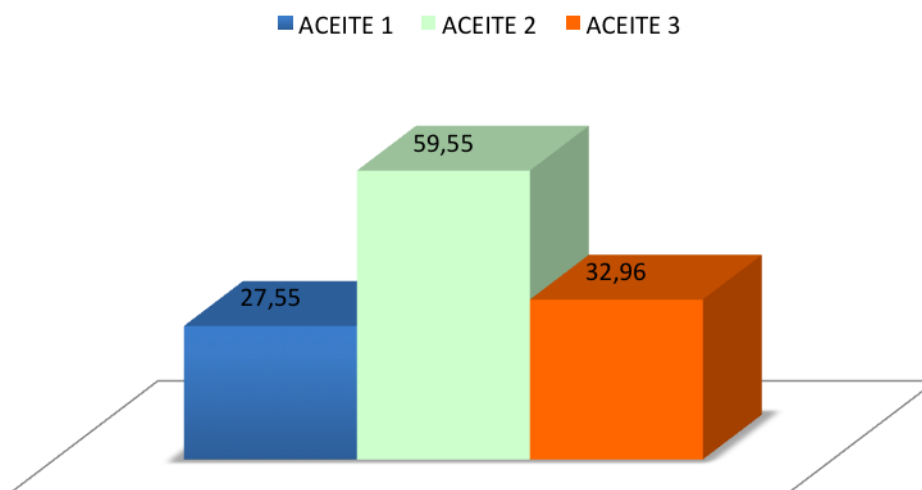


Figura 21. Comparación de resultados de ácido oleico en aceites

## CONTENIDO DE ÁCIDO LINOLEICO EN ACEITES

■ ACEITE 1 ■ ACEITE 2 ■ ACEITE 3

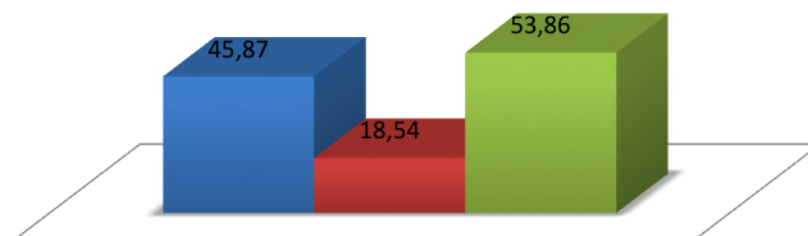


Figura 22. Comparación de resultados de ácido linoleico en aceites

## CONTENIDO DE ÁCIDO LINOLÉNICO EN ACEITES

■ ACEITE 1 ■ ACEITE 2 ■ ACEITE 3

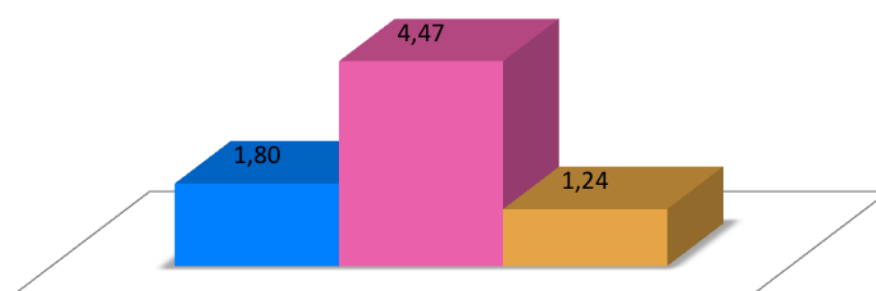


Figura 23. Comparación de resultados de ácido linolénico en aceites



### CONTENIDO PORCENTUAL DE ÁCIDO ELAÍDICO EN MARGARINAS

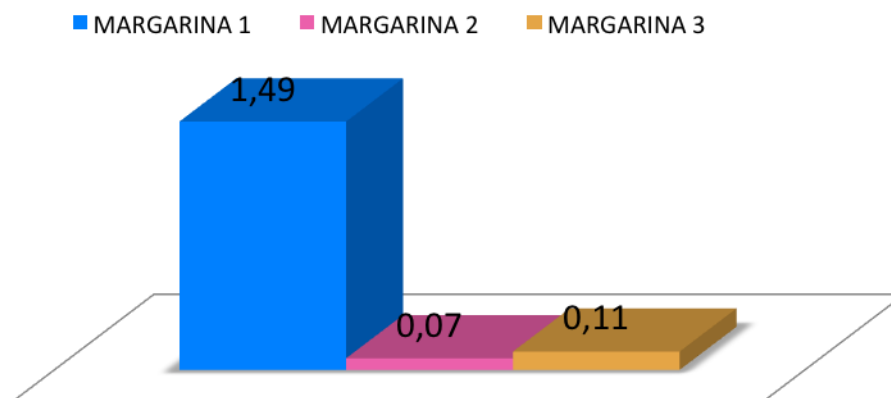


Figura 24. Comparación de resultados de ácido elaídico en margarinas

### CONTENIDO DE ÁCIDO OLEICO EN MARGARINAS

■ MARGARINA 1   ■ MARGARINA 2   ■ MARGARINA 3

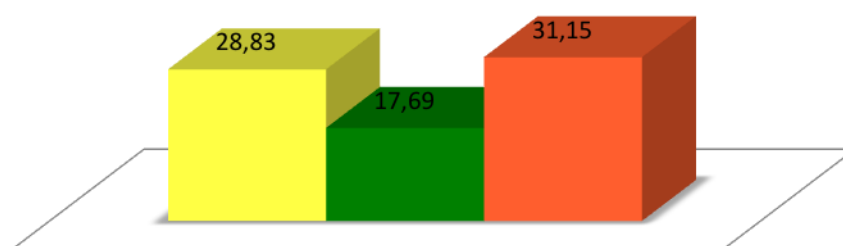


Figura 25. Comparación de resultados de ácido oleico en margarinas

### CONTENIDO PORCENTUAL DE ÁCIDO LINOLEICO EN MARGARINAS

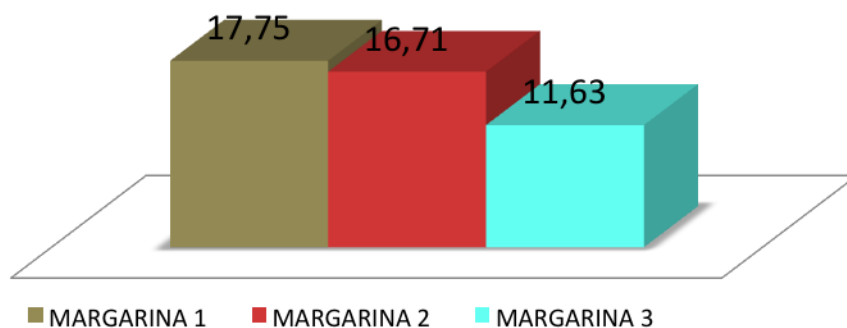


Figura 26. Comparación de resultados de ácido linoleico en margarinas

### CONTENIDO DE ÁCIDO LINOLÉNICO EN MARGARINAS

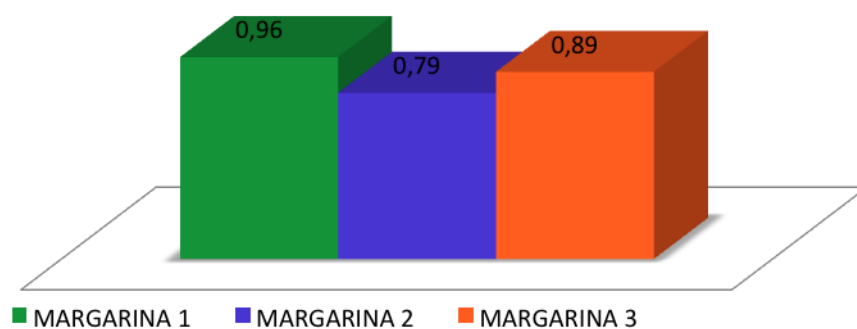


Figura 27. Comparación de resultados de ácido linolénico en margarinas

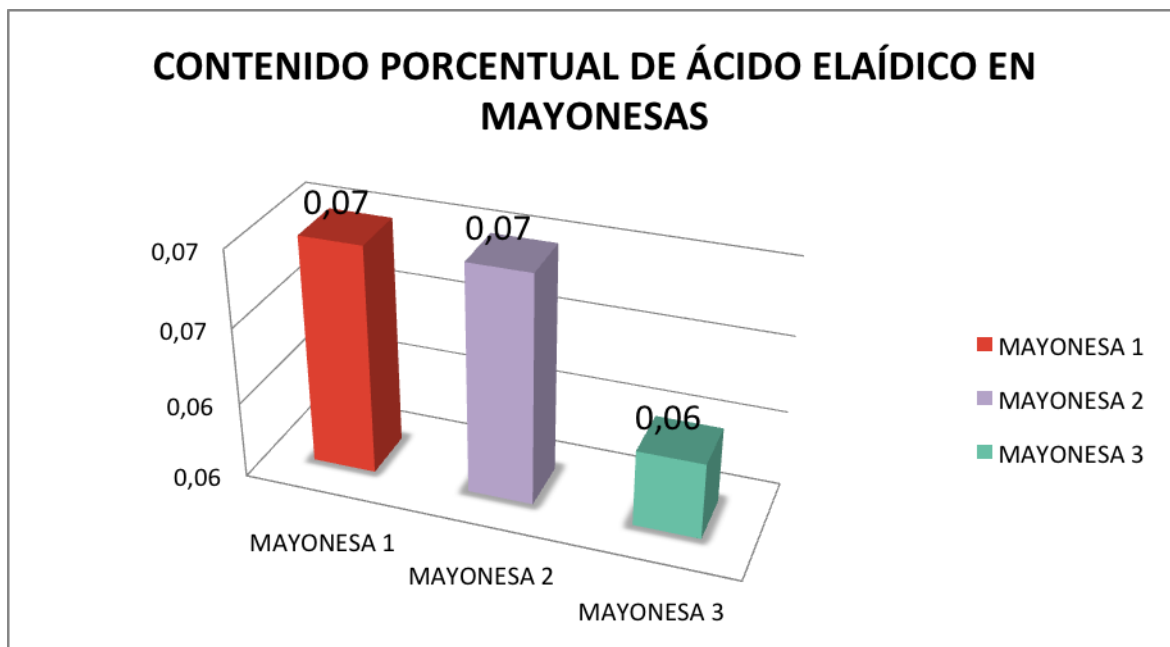


Figura 28. Comparación de resultados de ácido elaídico en mayonesas

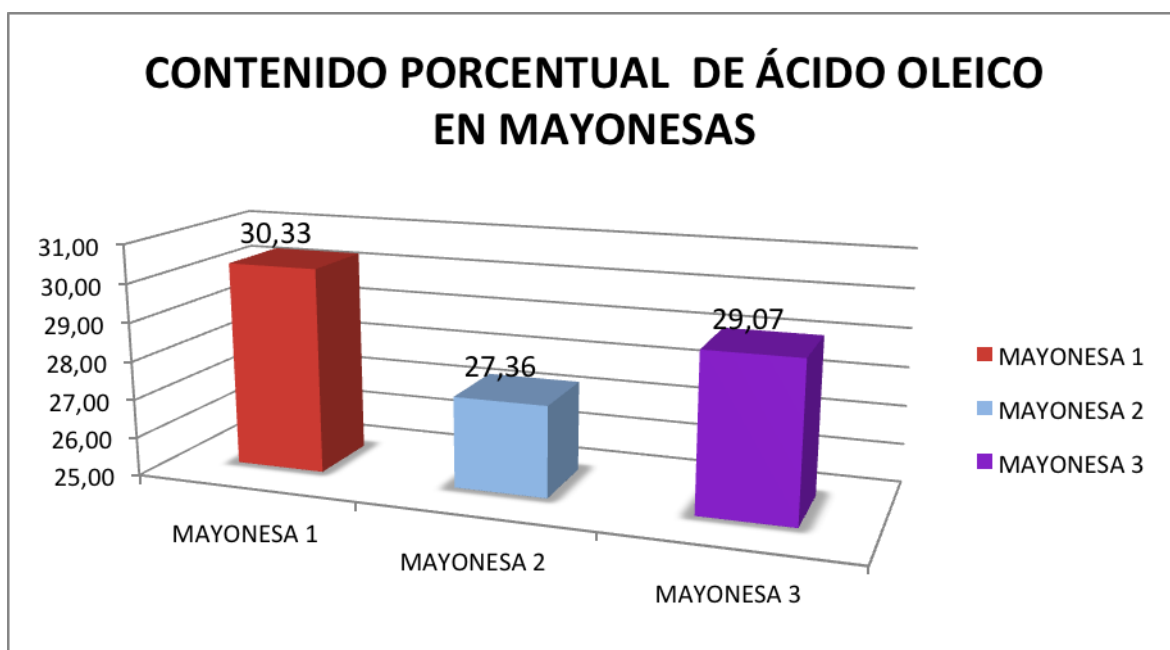
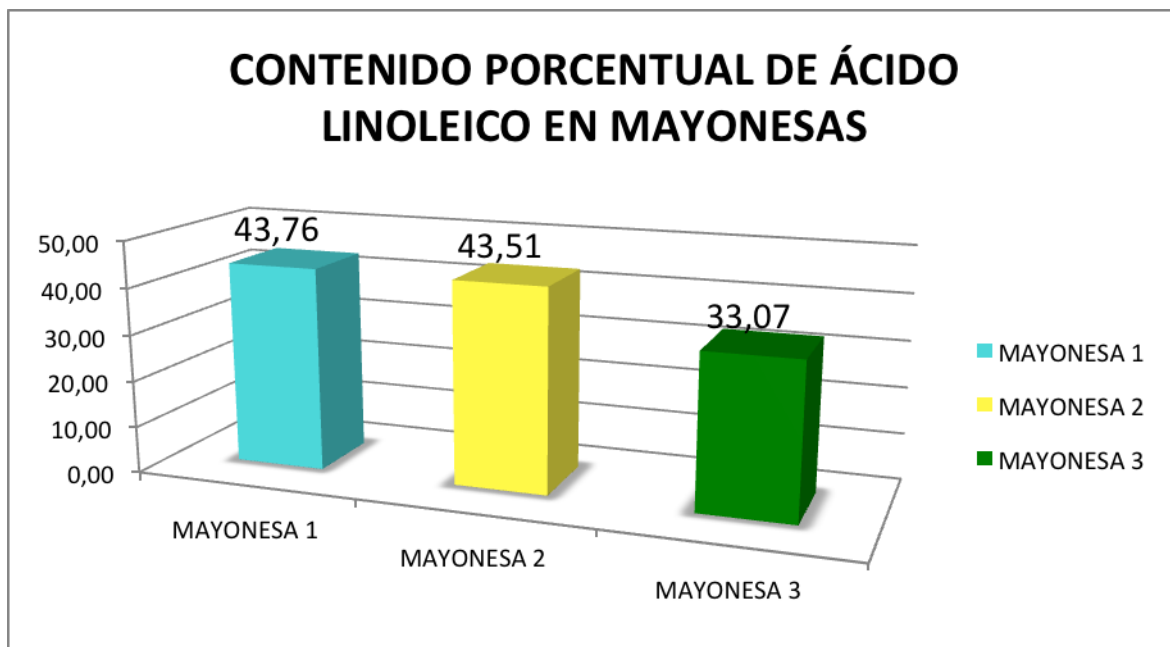
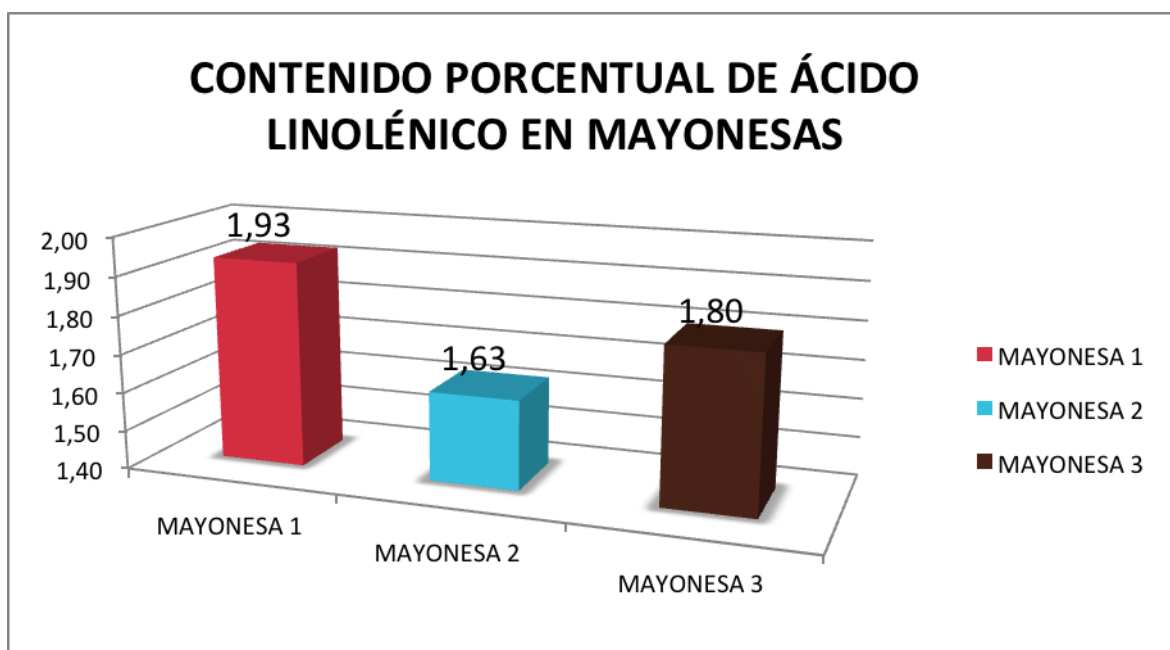


Figura 29. Comparación de resultados de ácido oleico en mayonesas



**Figura 30.** Comparación de resultados de ácido linoleico en mayonesas



**Figura 31.** Comparación de resultados de ácido linolénico en mayonesas

### 3.6 Cálculo de cantidad de ácidos saludables en las muestras

Con el promedio obtenido en las muestras de cada ácido graso se suma los ácidos grasos insaturados saludables.

$$\% \text{Ácidos saludables} = \% \text{Ác. Oleico} + \% \text{Ác. Linoleico} + \% \text{Ác. Linolénico} \quad (21)$$

### 3.6.1 Cálculo modelo para el aceite 1

$$\% \text{Ácidos saludables} = \% \text{Ác. Oleico} + \% \text{Ác. Linoleico} + \% \text{Ác. Linolénico}$$

$$\% \text{Ácidos saludables} = 27,98 + 45,07 + 4,52$$

$$\% \text{Ácidos saludables} = 70,37$$

**Tabla 45. Sumatoria de ácidos grasos insaturados saludables en aceites**

ÁCIDO GRASO	ACEITE 1 (contiene Aceite de soya)	ACEITE 2 (contiene Aceite de colza y oleína de palma)	ACEITE 3 (contiene Aceite de girasol)
ÁCIDO OLEICO	27,55	59,55	32,96
ÁCIDO LINOLEICO	45,87	18,54	53,86
ÁCIDO LINOLÉNICO	1,80	4,47	1,24
TOTAL	75,22	82,56	88,06

**Tabla 46. Sumatoria de ácidos grasos insaturados saludables en margarinas**

ÁCIDO GRASO	MARGARINA 1 (Mezcla de aceites vegetales Palma, soya y palmiste)	MARGARINA 2 (Mezcla de aceites vegetales de palma (refinados, hidrogenados, mezclas interesterificadas))	MARGARINA 3 (Aceite de palma, estearina de palma, aceite de soya, aceite de palmiste)
ÁCIDO OLEICO	28,33	17,69	31,15
ÁCIDO LINOLEICO	17,75	16,71	11,63
ÁCIDO LINOLÉNICO	0,96	0,79	0,89
TOTAL	47,54	35,19	43,67

**Tabla 47. Sumatoria de ácidos grasos insaturados saludables en mayonesas**

ÁCIDO GRASO	MAYONESA 1 (contiene Aceite de soya)	MAYONESA 2 (contiene Aceite de soya)	MAYONESA 3 (contiene Aceite de soya)
ÁCIDO OLEICO	30,33	27,36	29,07
ÁCIDO LINOLEICO	43,76	43,51	33,07
ÁCIDO LINOLÉNICO	1,93	1,63	1,80
TOTAL	76,02	72,50	63,94

### 3.7 Comparación de resultados

**3.7.1 Comparación de resultados con las etiquetas de los productos de estudio.** Para comparar los resultados obtenidos con lo que declara la etiqueta, es necesario transformar los resultados expresados en metil ésteres a triglicéridos (Tomado de la norma AOAC 996.06, ver anexo R).

$$\% \text{ de AG expresados como triglicérido} = \% \text{ de AG expresado como metil éster} + F_c \quad (22)$$

AG=ácidos grasos

Fc= factor de conversión de metil ésteres a triglicéridos

**Tabla 48. Resultados expresados como triglicéridos**

Muestras Analizadas	%AGme de ácido oleico	%TGL ácido oleico	%TGM	%AGme de ácido linoleico	%TGL ácido linoleico	%AGme de ácido linolénico	%TGL ácido linolénico	%TGP	%TGI	%AGme de ácido eláidico	%TGL ácido eláidico
Mayonesa 1	30,33	30,19	30,19	43,76	43,56	1,93	1,92	45,48	75,67	0,07	0,07
Mayonesa 2	27,36	27,24	27,24	43,51	43,31	1,63	1,62	44,93	72,17	0,07	0,07
Mayonesa 3	29,07	28,94	28,94	33,07	32,92	1,80	1,79	34,71	63,65	0,06	0,06
Margarina 1	28,33	28,20	28,20	17,75	17,67	0,96	0,96	18,62	46,83	1,49	1,48
Margarina 2	17,69	17,61	17,61	16,71	16,63	0,79	0,79	17,42	35,03	0,07	0,07
Margarina 3	31,15	31,01	31,01	11,63	11,58	0,89	0,89	12,46	43,47	0,11	0,11
Aceite 1	27,55	27,43	27,43	45,87	45,66	1,80	1,79	47,45	74,88	0,08	0,08
Aceite 2	59,55	59,28	59,28	18,54	18,45	4,47	4,45	22,90	82,19	0,04	0,04
Aceite 3	32,96	32,81	32,81	53,86	53,61	1,24	1,23	54,85	87,66	0,05	0,05

% AGme=Porcentaje de ácidos grasos expresados como metil ésteres.

% TGL= Porcentaje de ácidos grasos expresados como triglicéridos. (Fc= 0,9955 para ácido oleico y eláidico; Fc=0,9954 ácido linolénico y linoleico)

%TMI=Porcentaje total de grasas monoinsaturadas

%TGP=Porcentaje total de grasas poliinsaturadas

%TGI=Total de grasas insaturadas

**Tabla 49. Comparación de resultados con las etiquetas de los productos de estudio**

Muestras Analizadas	% Total grasa monoinsaturada			% Total grasa Poliinsaturada			Total grasa insaturada			% Total grasa trans		
	Etiqueta <sup>5</sup>	Resultados <sup>1,2,6</sup>	Diferencia	Etiqueta <sup>5</sup>	Resultados <sup>2,3,6</sup>	Diferencia	Etiqueta <sup>4,5</sup>	Resultados <sup>2,6</sup>	Diferencia	Etiqueta <sup>5</sup>	Resultados <sup>2,6</sup>	Diferencia
Mayonesa 1	60	30,19	29,81	10	45,48	+35,48	70	75,67	+5,67	0,00	0,07	+0,07
Mayonesa 2	ND	27,24	-	ND	44,93	-	88,89	72,17	16,72	0,00	0,07	+0,07
Mayonesa 3	ND	28,94	-	ND	34,71	-	83,33	63,65	19,68	0,00	0,06	+0,06
Margarina 1	36,36	28,20	8,16	18,18	18,62	+0,44	54,55	46,83	7,72	0,00	1,48	+1,48
Margarina 2	22,22	17,61	4,61	22,22	17,42	4,80	44,44	35,03	9,41	0,00	0,07	+0,07
Margarina 3	ND	31,01	-	ND	12,46	-	54,55	43,47	11,08	0,00	0,11	+0,11
Aceite 1	21,43	27,43	+6,00	64,29	47,45	16,84	85,71	74,88	10,83	0,00	0,08	+0,08
Aceite 2	ND	59,28	-	ND	22,90	-	71,43	82,19	+10,76	0,00	0,04	+0,04
Aceite 3	35,71	32,81	2,90	57,14	54,85	2,29	92,86	87,66	5,20	0,00	0,05	+0,05

<sup>1</sup> Tomado como ácido oleico

<sup>2</sup> Los resultados convertidos de metil-ésteres de ácidos grasos a triglicéridos (Tomado de la norma AOAC 996.06 y de la norma Mexicana NMX-F-089-SCFI-2008)

<sup>3</sup> Sumatoria de los ácidos linolénico y linoleico.

<sup>4</sup> Resta de los ácidos grasos saturados

<sup>5</sup> g/100 g de porción

<sup>6</sup> g/100 g muestra

### 3.7.2 Comparación de resultados con normas y referencias

Los resultados obtenidos se realizaron en comparación con la respectiva norma y referencia. Los aceites se compararon con la norma CODEX STAN 210-1999; las margarinas y mayonesas con las normas INEN y la base de datos del Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Agricultural Research Service United States Department of Agriculture, USDA).

**Tabla 50. Comparación de resultados de aceites con la norma CODEX STAN 210-1999**

ÁCIDO GRASO	NORMA PARA EL ACEITE DE SOYA MIN-MAX	ACEITE 1 (contiene Aceite de soya)	NORMA PARA LA OLEINA DE PALMA MIN-MAX	NORMA PARA EL ACEITE DE COLZA (CANOLA) MIN-MAX	ACEITE 2 (contiene Aceite de colza y oleína de palma)	NORMA PARA EL ACEITE DE GIRASOL MIN-MAX	ACEITE 3 (contiene Aceite de girasol)
Ácido oleico	17-30	27,55	39,8-46	8,0-60	59,55	14-39,4	32,96
Ácido linoleico	48-59	45,87	10-13,5	11,0-23	18,54	48,3-74	53,86
Ácido linolénico	4,5-11	1,8	ND-0,6	5,0-13	4,47	ND-0,3	1,24

**Tabla 51. Comparación de resultados de margarinas con la referencia de Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Agricultural Research Service United States Department of Agriculture, USDA)**

ÁCIDO GRASO	MARGARINA 1 g/100 g muestra	MARGARINA 2 g/100 g muestra	MARGARINA 3 g/100 g muestra	USDA MARGARINA regular 80% grasa g/100g de porción
Ácido oleico	28,20	17,61	31,01	35,54-80,67
Ácido linoleico	17,67	16,63	11,58	20,56-24,70
Ácido linolénico	0,96	0,79	0,89	19,57-46,77

**Tabla 52. Comparación de resultados de mayonesa con la referencia a la base de datos del Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Agricultural Research Service United States Department of Agriculture, USDA)**

ÁCIDO GRASO	MAYONESA 1 g/100 g muestra	MAYONESA 2 g/100 g muestra	MAYONESA 3 g/100 g muestra	USDA MAYONESA (con aceite de soya) g/100g de porción
Ácido oleico	30,19	27,24	28,94	9,01-22,5
Ácido linoleico	43,56	43,31	32,92	16,05-52,10
Ácido linolénico	1,92	1,62	1,79	20-47,03



### 3.8 Prueba del método de esterificación de aceites

Se realizó un ensayo de aptitud (intercomparación) de una muestra de aceite dando los siguientes resultados (Ver anexo C)

$x_i$ =Valor reportado

$X$ =valor asignado de la intercomparación

$\hat{\sigma}$  =Desviación estándar robusta

$$z = \frac{x_i - X}{\hat{\sigma}} \quad (23)$$

**Tabla 53. Resultados de la intercomparación**

ÁCIDO GRASO COMO METIL ESTER	VALOR ASIGNADO	VALOR REPORTADO	$\phi$	INDICADOR DE DESEMPEÑO Z-SCORE	INTERPRETACIÓN DE FACTOR Z-SCORE	RESULTADO
Á. Oleico	25,7	31,9	3,4	1,83	$ z  < 2$ Resultado satisfactorio	Satisfactorio
Á. Linoleico	42,4	39,8	3,7	-0,71	$2 <  z  < 3$ Resultado cuestionable $ z  > 3$ Resultado no satisfactorio	Satisfactorio

#### 4. DISCUSIÓN

- Las ecuaciones de la calibración del equipo cromatográfico con los estándares de ácidos grasos determinaron que son lineales (ver figuras 16 a la 19), su coeficiente de correlación fue de 0,999 para los ácidos de estudio; además, el coeficiente de variación CV obtenido en todos los ácidos de la calibración fueron menores del 10%, por lo que los resultados están dentro de los rangos establecidos de la tabla 11.
- En la variable F (resultados del análisis de varianza de un factor, ver tablas 29 a la 37) las cifras obtenidas son menores que el F crítico=4,066 en todos los ácidos, exceptuando en una repetición de la mayonesa 2 cuyo valor es 6,62 superándolo en el ácido linolénico, estos resultados determinan que la comparación de los datos obtenidos no tienen diferencias significativas, es decir los datos son iguales estadísticamente.
- Los resultados obtenidos con el coeficiente de variación CVr (repetibilidad) y CVR (reproducibilidad) son menores del 10%, sin embargo, en 3 resultados se obtienen datos mayores: ácido elaídico en el aceite 3, ácido linoleico en la mayonesa 1 y ácido elaídico en la mayonesa 2, donde su valor se encuentra entre 10-20%, estos valores se deben a que el proceso de extracción de grasas y aceites es parcial. Los resultados en general se encuentran dentro de los parámetros establecidos en la tabla 11.
- La exactitud a través del porcentaje de recuperación (ver tablas 38 a la 41) obtuvo valores entre 80% – 120%, aunque los valores mayores a 100% determinan que existe compuestos que hacen interferencia para la cuantificación; los resultados de exactitud con los estándares de ácidos grasos, se encuentran dentro de los criterios de aceptación (ver tabla 11).
- El ácido graso elaídico en los aceites, (ver tabla 42) reportó concentraciones menores al 0,1%; en las margarinas (ver tabla 43) se encuentran: un valor 1,49% (margarina 1) y las demás muestras de margarinas presentan valores similares a los aceites; para las mayonesas (ver tabla 44) todos los valores se encuentran menores al 0,1%. La mayoría de muestras analizadas tienen cantidades pequeñas de ácido graso trans. (como ácido elaídico).

- Comparando los resultados obtenidos con los de las etiquetas (ver tabla 48 y 49), la mayonesa 1 declara tener 60% de grasa monoinsaturada (como ácido oleico), pero como resultado se obtiene un 29,81% menos; para la grasa poliinsaturada (sumatoria de ácidos linolénico y linoleico) es 35,48% mayor que la reportada en la etiqueta; para la mayonesa 2 y 3 no se especifican las cantidades de grasas monoinsaturadas y poliinsaturadas, pero si de la grasa total insaturada, encontrando que en la mayonesa 2 el 16,39% menor a lo reportado, igual sucede con la para la mayonesa 3 que es 19,39% menor.
- Los resultados obtenidos de las margarinas en comparación con los resultados de sus etiquetas (ver tabla 48 y 49) demuestran: margarina 1, 8,16% menos que la declarada en grasas monoinsaturadas, para las grasas poliinsaturadas es mayor con 0,44% y en total de insaturadas de 7,72%; para la margarina 2, en grasas monoinsaturadas es 4,61% menor y 4,80% menor en poliinsaturadas, en total de insaturadas 9,41% menor; la margarina 3 no expresa la cantidad de grasas mono- y poliinsaturadas, pero si su cantidad total de insaturadas, por lo que es menor en 11.08% a lo que describe su inscripción.
- En las grasas monoinsaturadas y poliinsaturadas comparando la descripción de la etiqueta con los resultados de la investigación (ver tabla 48 y 49) son 6% mayor y 16,84% menor respectivamente para el aceite 1, para las grasas totales insaturadas es 10,83% menos de la etiqueta; en el aceite 2 su grasa total insaturada es 10,76% mayor, no están descritas las cantidades de monoinsaturadas y poliinsaturadas en la etiqueta por lo que no se puede comparar en este aceite; en el aceite 3 los porcentajes de mono- y poliinsaturados están en 2,90% y 2,29% menor a lo detallado, 5,20% es la cantidad menor de grasas insaturadas comparando las etiquetas con los resultados.
- En las muestras analizadas de aceites (ver tabla 48 y 50), los ácidos oleico y linoleico reportados se encuentran dentro de los valores establecidos de la norma internacional CODEX (ver tabla 14); el ácido linolénico no está en los parámetros establecidos por esta norma.
- Las margarinas de acuerdo a las normas INEN no tienen determinado la cantidad de ácidos grasos por lo que se hace una comparación con la base de datos nutricionales del Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA); las margarinas tienen cantidades menores de ácido oleico, así mismo para el ácido linoleico y linolénico, es decir no están dentro de las especificaciones de las margarinas.

- El contenido de ácido linoleico en mayonesas se encuentra dentro de los rangos para mayonesas de soya, de acuerdo con la base de datos de USDA, pero en el ácido oleico y linolénico, estos alimentos no se encuentran dentro de los límites.
- En la intercomparación el indicador de desempeño "z", se obtuvo un valor de -0,71 en el ácido linoleico y para el ácido oleico se obtuvo 1,83, que para los demás ácidos no fueron probados para ensayos de intercomparación.

## 5. CONCLUSIONES

- Los variables consideradas linealidad, exactitud, precisión, y el parámetro F están dentro de los rangos establecidos, conformes con los criterios de aceptación, es decir, los resultados reportados son confiables, reproducibles y estadísticamente iguales.
- El método utilizado para la determinación de ácidos grasos en margarinas, aceites y mayonesas es óptimo para la cuantificación de los ácidos grasos en los alimentos estudiados.
- El aceite 3, margarina 1 y mayonesa 1 constituyen las muestras que contiene mayor cantidad de ácidos grasos saludables, comprobando que en sus ingredientes principales contienen aceites de soya y girasol.
- Los resultados obtenidos en los aceites, demuestran que los productos contienen omega 3, 6 y 9 (como ácido linolénico, linoleico y oleico), pero no en las cantidades declaradas en sus etiqueta, por lo que evidencian que en la mayoría de muestras no contienen cantidades de ácidos grasos saludables que señala la norma CODEX; afectando a su calidad.
- En las margarinas y mayonesas los resultados, tienen diferencias evidentes en relación a la referencia con la base de datos nutricionales del Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en los ácidos grasos determinados, así mismo sucede con la cantidad detallada en su etiqueta, sus valores son menores, la calidad del producto se ve afectada, lo que señala al final la investigación.
- La cantidad de ácido elaídico en las muestras son menores al 0,1%. Estos resultados comparados con lo que indican las etiquetas que aseguran tener 0% grasas trans, cumplen lo descrito, exceptuando a la margarina 1 (1,49% de ácido elaídico), desfavoreciendo con esto a la calidad de este producto.
- De acuerdo a los resultados de intercomparación, el método utilizado para la cuantificación de ácidos grasos se determinó satisfactorio, de acuerdo con el valor del indicador de desempeño "z", con ello aseguramos que con este parámetro los valores reportados en las margarinas, mayonesas y aceites de sus ácidos grasos son confiables.

## **6. RECOMENDACIONES**

- El estudio de otros ácidos grasos trans como el linoelaídico se debe determinar para comprobar con mayor aseveración lo que dicen las etiquetas de los productos que son de concentraciones menores al 2% de grasas trans.
- De acuerdo a los resultados obtenidos, el método de esterificación se puede utilizar para cuantificar los ácidos grasos insaturados de otros alimentos, además se debería hacer la cuantificación de ácidos saturados, con el objetivo de identificar todo el perfil lipídico de los alimentos y comprobar su calidad.
- Para una mejor extracción de grasas y aceites en mayonesas es recomendable utilizar un método más rápido y con mayor recuperación, con esto se mejoraría la técnica de metil-esterificación en estas muestras.
- La cuantificación de ácidos grasos se puede perfeccionar con el uso de a espectrometría de masas que permite una mayor facilidad y confirmación para la identificación de cada componente.
- Los productores deberían mejorar su control de calidad para asegurar al consumidor lo que describen en su etiqueta.

## CITAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] VELASQUEZ, Gladys. Fundamentos de la nutrición saludable. Editorial Universidad de Antioquia, Medellín, 2006 p. 47.
- [2] ORTEGA, R.M. et al. *Importancia de las grasas en la alimentación* [en línea]. Madrid: Universidad Complutense [Fecha de consulta: 23 de octubre 2013]. Disponible:<[www.nutricion.org/publicaciones/pdf/prejuicios\\_y\\_verdades\\_sobre\\_grasas.pdf](http://www.nutricion.org/publicaciones/pdf/prejuicios_y_verdades_sobre_grasas.pdf)>.
- [3] CARRERO, Isabel y HERRÁEZ, Ángel. *El mundo de los lípidos* [en línea]. España: Biomodel.uah.es [Fecha de consulta: 17 de octubre 2013]. Disponible en: <<http://www2.uah.es/biomodel/model2/lip/nomen-acgr-omega.htm>>.
- [4] UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO. *Sesión 08: Saponificación de las materias grasas* [en línea]. Trujillo: Universidad Cesar Vallejo [Fecha de consulta: 18 de marzo de 2013]. Disponible en: <[www.ucvvirtual.edu.pe/campus/HDVirtual/700426354/Teor%C3%ADa/7000001834/TecNoAl\\_08.pdf](http://www.ucvvirtual.edu.pe/campus/HDVirtual/700426354/Teor%C3%ADa/7000001834/TecNoAl_08.pdf)>. p. 188
- [5] GRUPO DE SÍNTESIS ORGÁNICA. *Tema 11. Ácidos carboxílicos y derivados*. [en línea]. España: Universidad Jaume I. 2011 [Fecha de consulta: 21 de mayo de 2013]. Disponible en: <<http://www.sinorg.uji.es/Docencia/QO/tema11QO.pdf>>. p. 11.
- [6] HERNANDEZ, Manuel y SASTRE, Ana. Tratado de nutrición. Editorial Díaz de Santos, Madrid, 1999. p. 397.
- [7] MÉNDEZ, Ángeles. *Aceites*. [en línea]. La Guía. 2010 [Fecha de consulta: 22 de abril de 2013]. Disponible en: <<http://quimica.laguia2000.com/compuestos-quimicos/aceites>>.
- [8] VALENZUELA, Catalina. Caracterización Reológica de Mayonesa Formulada con Fibra de Trigo. Trabajo de grado. Ingeniero en Alimentos. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Santiago de Chile. 2010. p. 4.

- [9] VALENCIA, Juan. Estandarización de la Técnica de Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas para la Identificación y Cuantificación de Metil-ésteres de Ácidos. Trabajo de grado. Tecnólogo Químico. Universidad Tecnológica De Pereira. Escuela de Química. Pereira. 2008. p. 32.
- [10] DAGACH, Ricardo y OLIVARES, Sonia. *Importancia de las grasas y aceites para el crecimiento y desarrollo de los niños*. [en línea]. FAO Corporate Document Repository. 1994. [Fecha de consulta: 17 de marzo de 2013]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/t4660t/t4660t05.htm>.
- [11] SKOOG, Douglas, HOLLER, James y NIEMAN, Timothy. Principios de análisis instrumental, Quinta edición, Editorial McGraw Hill, Madrid, 2001. p. 664.
- [12] UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA. *Guía de Cromatografía*. [en línea] Caracas 2008 [Fecha de consulta: 8 Marzo 2013]. Disponible en <http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/LIApregrado/archivos/Guia%20para%20cromatografia.pdf>
- [13] Ibid [12]. p. 25.
- [14] Ibid [12]. p. 16.
- [15] Ibid [12]. p. 17.
- [16] MILLER, James y MILLER, Jane. Estadística y quimiometría para química analítica, cuarta edición, Editorial Pearson Education S. A., Madrid, 2002, p. 165.
- [17] RODRIGUEZ Felix. *Intercomparaciones y Ensayos de Aptitud*. [en línea]. El Salvador 2003. [Fecha de consulta: 18 Noviembre 2013]. Disponible en [http://www.cegesti.org/agace/download/archivos/Panama/EnsayosdeAptitud\\_2%5B1%5D.pdf](http://www.cegesti.org/agace/download/archivos/Panama/EnsayosdeAptitud_2%5B1%5D.pdf)



## BIBLIOGRAFÍA

AGUIRRE, L., et al., Validación de métodos analíticos, Editorial. A.E.F. Industria. 2001, España. 120 p.

AOAC Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis of AOAC International, Editorial Association of Official Analytical Chemists, 18a Edición, 2005, Maryland. E.E.U.U. 2590 p.

DÍAZ, Keila. Cuantificación de ácidos grasos trans por cromatografía de gases en pan blanco e integral de la planta de procesamiento de granos de Zamorano. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. Proyecto Especial de Graduación. Ingeniera en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura. Carrera Agroindustria Alimentaria. Zamorano. 2005. 30 p.

DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS, Alimentos - determinación de ácidos grasos cis-, trans-, saturados, monoinsaturados y poli-insaturados en aceites y grasas de origen vegetal o animal de animales no rumiantes por cromatografía capilar gas líquido – método de prueba, México, 2008, 19 p. NMX-F-089-SCFI-2008.

FAO. Grasas y aceites en la nutrición humana. Consulta FAO/OMS de expertos [en línea]. 1997. [Fecha de consulta: 5 Agosto 2013]. Disponible en <<http://www.fao.org/docrep/v4700s/v4700s0a.htm>>.

FAO/OMS. Norma del Codex para grasas y aceites comestibles no regulados por normas individuales, Roma:1999 5 p. CODEX STAN 19-1981

FAO/OMS. NORMA DEL CODEX PARA ACEITES VEGETALES ESPECIFICADOS, Roma:1999. 17 p. *CODEX STAN 210-1999*

HERNANDEZ, Manuel y SASTRE. Ana. Tratado de nutrición. Editorial Díaz de Santos, Madrid, 1999. 1479 p.

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, Mezclas de aceites vegetales comestibles. Requisitos. Quito: INEN. , 2012. 7 p. NTE INEN 34:2012

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, Mayonesa requisitos. Quito: INEN., 2010. 10 p. NTE INEN 2 295:2010

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, Margarina de mesa requisitos. Quito: INEN., 2005. 15 p. NTE INEN 276:2005

JIMÉNEZ, Indira y GONZÁLEZ, Aura. Eficiencia del producto de hidrólisis ácida de los polisacáridos del mucílago de *aloe vera (aloe barbadensis miller)* de diferentes cultivos del departamento de Risaralda, Colombia. Trabajo de grado. Químico industrial. Universidad Tecnológica de Pereira. Escuela de tecnología química. Pereira. 2012. 110 p.

JOFRE, Rosario. Validación de la metodología analítica para la determinación de ácidos grasos en aceites de oliva extra virgen. Trabajo de grado. Químico Farmacéutico. Universidad De Chile. Santiago de Chile. 2009. 92 p.

JURADO, José. *Aplicación de Microsoft Excel a la Química Analítica: validación de métodos analíticos* [en línea] Departamento de Química Analítica. 2008 [Fecha de consulta: 12 Noviembre 2013]. Disponible en <<http://personal.us.es/jmjurado/docs/AQAEXCEL.pdf>>

ROLDÁN, Lady. Comparación proximal de ocho accesiones de piñón (*jatropha curcas*) provenientes de Honduras, México, Brasil y El Salvador del banco de germoplasma. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano , Proyecto especial de Graduación. Ingeniera En Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura. Carrera De Agroindustria Alimentaria. Zamorano. 2013. 26 p

MENÉNDEZ, Alejandra. Validación y cálculo de incertidumbre para la determinación de microorganismos indicadores, mediante microbiología clásica y nmp automatizado, en matrices cárnicas. Trabajo de Maestría. Máster en Biotecnología del Medioambiente y la Salud. Asociación De Industrias Cárnicas del Principado de Asturias. 2013.

CONDÉ NAST, SELFNutritionData, [en línea]. 2014. [Fecha de consulta: 17 Febrero 2014]. Disponible en [www.nutritiondata.com](http://www.nutritiondata.com).

PROAÑO, Pablo; POZO, Pablo y GUZMAN, Andrea. Perfil Lipídico y contenido de ácidos grasos trans en productos ecuatorianos de mayor consumo. Revista PUCE, (94): 15-147, noviembre 2012.

QUATTROCCHI, Oscar Alberto; ANDRIZZI, Sara Abelaira y LABA, Raúl Felipe. Introducción a la HPLC, Aplicación y práctica. 18 edición. Editorial Paraninfo. Madrid. 2007. 1072 p.

RUIZ, Juan y MONTAÑEZ, Carlos. Validación de la repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo bajo carga monotónica en mezclas asfálticas. Trabajo De Grado. Ingeniero Civil. Universidad Industrial se Santander. Escuela de Ingeniería Civil. Bucaramanga. 2011. 140 p.

USDA, National Nutrient Database for Standard Reference. [en línea]. 2014. [Fecha de consulta: 26 Febrero 2014]. Disponible en: <http://ndb.nal.usda.gov/>

# **ANEXOS**

## ANEXO A

### CERTIFICADO DEL MIX DE ESTÁNDARES DE ÁCIDOS GRASOS (COMO METIL ÉSTERES)

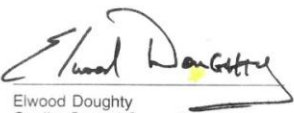
<i>Certificate of Analysis</i>							
DESCRIPTION: Grain FAME Mix, 10mg/ml in CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>							
CATALOG NO.: 47801				MFG DATE: Jul-2010			
LOT NO.: LB77715				EXPIRATION DATE: Jul-2013			
SOLVENT: METHYLENE CHLORIDE							
ANALYTE (1)	CAS NUMBER	PERCENT PURITY (2)	WEIGHT% (3)	ANALYTICAL (4)	STD DEV	SPELCO LOT NO	
CIS-9-OLEIC METHYL ESTER	112-62-9	99.9	19.6	19.3	+/- 0.50	LB59549	
METHYL ARACHIDATE	1120-28-1	99.9	1.9	1.9	+/- 0.04	LB61617	
METHYL BEHENATE	929-77-1	99.8	1.9	1.9	+/- 0.03	LB60315	
METHYL DECANOATE (CAPRATE)	110-42-9	99.9	3.2	3.1	+/- 0.10	LB62949	
METHYL DICOSENOATE	2390-09-2	99.9	1.9	2.0	+/- 0.04	LB63260	
METHYL ERUCATE (CIS-13-DOCOSEN	1120-34-9	99.3	1.9	1.9	+/- 0.03	LB38600	
METHYL HEPTADECANOATE	1731-92-6	99.9	3.2	2.9	+/- 0.08	LB54611	
METHYL LAURATE	111-82-0	99.8	6.4	6.2	+/- 0.19	LB32645	
METHYL LINOLEATE	112-63-0	99.9	13.0	6.3	+/- 0.14	LB63505	
METHYL LINOLENATE	301-00-8	99.6	6.4	12.6	+/- 0.30	LB60102	
METHYL MYRISTATE	124-10-7	99.9	3.3	3.2	+/- 0.09	LB68051	
METHYL OCTANOATE	111-11-5	99.9	1.9	1.8	+/- 0.06	LB57883	
METHYL PALMITATE	112-39-0	99.9	13.0	12.7	+/- 0.37	LB68693	
METHYL PALMITOLEATE (METHYL CI	1120-25-8	99.9	6.4	5.9	+/- 0.17	LB68760	
METHYL PENTADECANOATE	7132-64-1	99.6	1.9	1.9	+/- 0.05	LB53149	
METHYL STEARATE	112-61-8	99.9	6.5	6.4	+/- 0.19	LB55918	
METHYL TRIDECANOATE	1731-88-0	99.4	3.2	3.1	+/- 0.10	LB56329	
MYRISTOLEIC ACID METHYL ESTER	56219-06-8	99.9	1.9	1.9	+/- 0.53	LB46488	
TRANS-9-ELAIDIC METHYL ESTER	1937-62-8	96.9	2.6	2.6	+/- 0.07	LB38597	

(1) Listed in alphabetical order.


(2) Determined by capillary GC-FID, unless otherwise noted.

(3) Weight percent of analyte, calculated by using analyte weights. The Total may not equal 100% due to rounding. Weight concentrations may not remain stable after opening, even if resealed. NIST-Traceable weights are used to verify balance calibration with the preparation of each lot.

(4) Determined by chromatographic analysis against an independently prepared reference lot. Mean of replicate injections.



Elwood Doughty  
Quality Control Supervisor



595 North Harrison Road  
Bellefonte, PA 16823-0048 USA  
Phone (814) 359-3441

Supelco warrants that its products conform to the information contained in this publication. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. Please see the latest catalog or order invoice and packing slip for additional terms and conditions of sale.

## CONTINUACIÓN ANEXO A

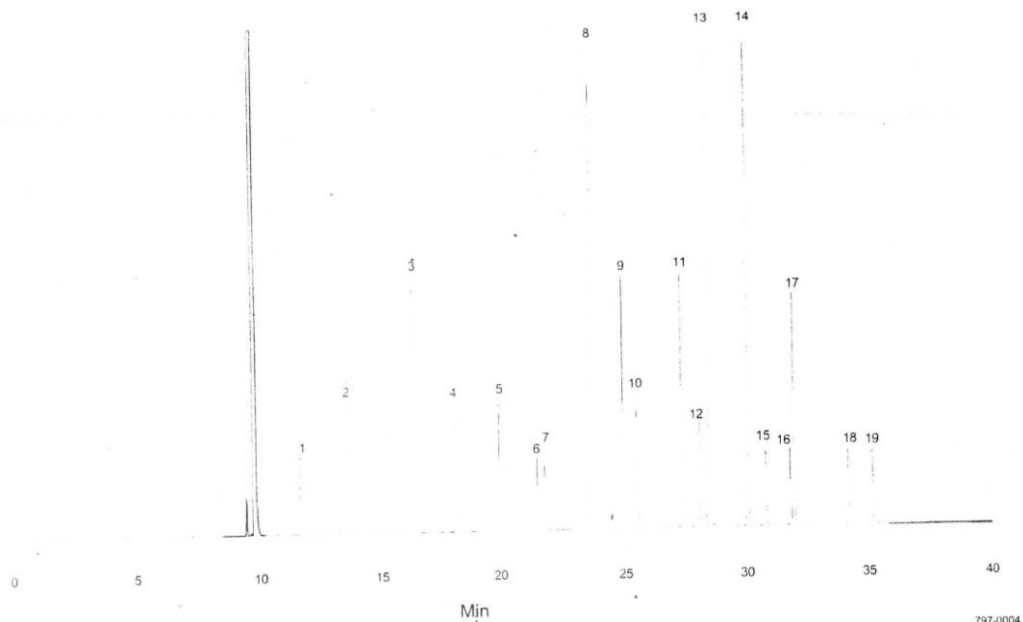
This Data Sheet Contains Important Information About The Product.

### Grain Fatty Acid Methyl Ester Mix Catalog No. 47801

This fatty acid methyl ester (FAME) mixture is carefully prepared by weight. The weight percentage of each component is indicated. Each ampule contains 10mg/mL of the FAME reference standard mix in methylene chloride.

Column: **SP™-2560, 100m x 0.25mm ID, 0.20µm film**  
Cat. No.: **24056**  
Oven: **140°C (5 min) to 240°C at 4°C/min**  
Carrier: **helium, 20cm/sec**  
Det.: **FID, 260°C**  
Inj.: **1µL, 260°C, split 100:1**

Component	Weight %
1. Caprylic Acid Methyl Ester (C8:0)	1.9%
2. Capric Acid Methyl Ester (C10:0)	3.2%
3. Lauric Acid Methyl Ester (C12:0)	6.4%
4. Tridecanoic Acid Methyl Ester (C13:0)	3.2%
5. Myristic Acid Methyl Ester (C14:0)	3.2%
6. Myristoleic Acid Methyl Ester (C14:1n9c)	1.9%
7. Pentadecanoic Acid Methyl Ester (C15:0)	1.9%
8. Palmitic Acid Methyl Ester (C16:0)	13.0%
9. Palmitoleic Acid Methyl Ester (C16:1n9c)	6.4%
10. Heptadecanoic Acid Methyl Ester (C17:0)	3.2%
11. Stearic Acid Methyl Ester (C18:0)	6.5%
12. Elaidic Acid Methyl Ester (C18:1n9t)	2.6%
13. Oleic Acid Methyl Ester (C18:1n9c)	19.6%
14. Linoleic Acid Methyl Ester (C18:2n6c)	13.0%
15. Arachidic Acid Methyl Ester (C20:0)	1.9%
16. cis-11-Eicosenoic Acid Methyl Ester (C20:1)	1.9%
17. Linolenic Acid Methyl Ester (C18:3n3)	6.4%
18. Behenic Acid Methyl Ester (C22:0)	1.9%
19. Erucic Acid Methyl Ester (C22:1n9)	1.9%



797-0004

T175058  
© 1998 Sigma-Aldrich Co.

SUPELCO  
Bellefonte, PA

## ANEXO B

### CERTIFICADOS DE ESTÁNDARES DE ÁCIDOS GRASOS

Certificate of Analysis		Dr. Ehrenstorfer									
<b>Product Identification</b> 15727000 Oleic acid CA Phosphorothioic acid, S-[(1,3-dihydro-1,3-dioxo-2H-isindol-2-yl)methyl] O,O-dimethyl ester IUPAC Phosphorothioic acid, S-[(1,3-dihydro-1,3-dioxo-2H-isindol-2-yl)methyl] O,O-dimethyl ester Formula C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> Mol.Weight 282.46 CAS No. 112-80-1		<b>Reference Materials for Residue Analysis</b> Expiry Date 30.04.2014 Lot Number 10331 Store at -18 °C ±4 °C									
Please note: The expiry date is valid under recommended storage conditions only.											
<b>Toxicological Data</b> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> </div> R Code 36-28 S Code 25 LD50 (Rats female/male in mg/kg) 74000	<b>Physical Data</b> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 33%;">Phase</td> <td style="width: 33%;">liquid</td> <td style="width: 33%;">Vapour pressure 1mmHg at 176 °C</td> </tr> <tr> <td>Color</td> <td>colourless</td> <td>Solubility in water N/A g/l at °C</td> </tr> <tr> <td>Melt. Range</td> <td></td> <td>Boiling Range (lit.)</td> </tr> </table>		Phase	liquid	Vapour pressure 1mmHg at 176 °C	Color	colourless	Solubility in water N/A g/l at °C	Melt. Range		Boiling Range (lit.)
Phase	liquid	Vapour pressure 1mmHg at 176 °C									
Color	colourless	Solubility in water N/A g/l at °C									
Melt. Range		Boiling Range (lit.)									
<b>Analytical Data</b> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%;">           Detection: GC/FID            Column: DB-5, 30 m, ID 0.25 mm            Inj. Vol.: 1,00 µl            Flow: 1,0 ml/min            Ret. Time: 16,47 min.         </td> <td style="width: 50%;">           Method Details:            Injector: 320° C            Start Temperature: 120° C for 4 min            End Temperature: 320° C for 3 min            Gradient: 15° C/min         </td> </tr> </table>			Detection: GC/FID Column: DB-5, 30 m, ID 0.25 mm Inj. Vol.: 1,00 µl Flow: 1,0 ml/min Ret. Time: 16,47 min.	Method Details: Injector: 320° C Start Temperature: 120° C for 4 min End Temperature: 320° C for 3 min Gradient: 15° C/min							
Detection: GC/FID Column: DB-5, 30 m, ID 0.25 mm Inj. Vol.: 1,00 µl Flow: 1,0 ml/min Ret. Time: 16,47 min.	Method Details: Injector: 320° C Start Temperature: 120° C for 4 min End Temperature: 320° C for 3 min Gradient: 15° C/min										
Identity: RT Comment: Purity was determined by external standard method. GC after methylation by diazomethane.											
Water Content 0,1 %      Determined by Karl-Fischer Titration Det. Purity 98,5 %      Tolerance/Uncertainty +/- 0,5 % <p style="font-size: small;">The uncertainty/tolerance of this standard is calculated in accordance with the EURACHEM/CITAC Guide - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement - Second Edition. The uncertainty given is the expanded combined uncertainty and represents an estimated standard deviation equal to the positive square root of the total variance of the uncertainty of components. The expanded uncertainty is U which is Uc(y)*K, where K is the coverage factor at the 95% confidence level (K=2). The expanded uncertainty is based on the combination of uncertainties associated with each individual operation involved in the preparation of this product.</p>											
Certified on 30.04.2012 by C. Neukom											
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;">             Authorized copy              from the original  <b>21. SEP. 2012</b>              Sign.:  </div>											

REG. NO. 1971-01

The Laboratory Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers is accredited by DGA as indicated by the Accreditation Certificate DGA-PL-4536.00 based on DIN EN ISO/IEC 17025:2005 for the weighing of amounts of substances for the preparation of standard solutions.

Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers · Bgm.-Schlosser-Str. 6 A · 86199 Augsburg · Germany  
 Phone +49 821 906080 Fax +49 821 9060888 info@analytical-standards.com  
 The warranty for this product is limited to the purchasing price of this product.

DGA-PL-4536.00

**Figura B.1 Certificado de estándar de ácido oleico**

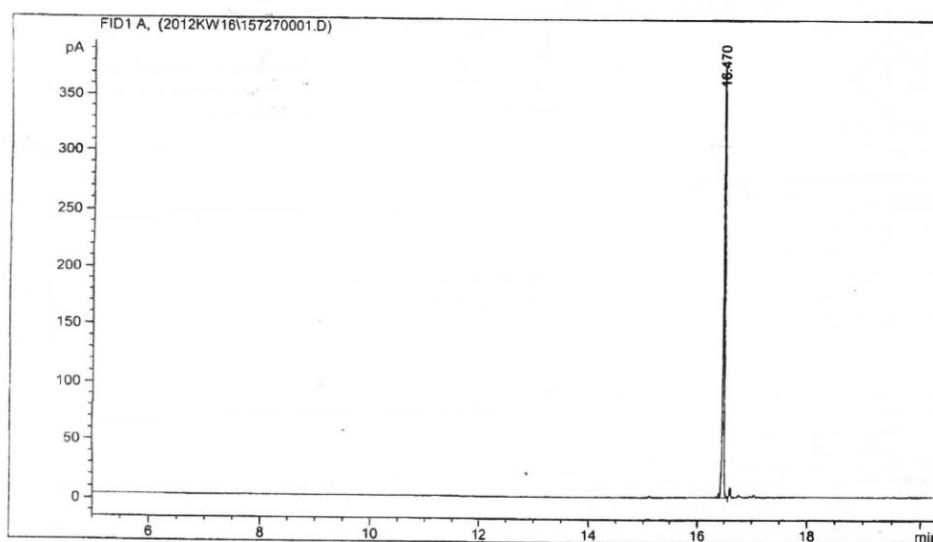
## CONTINUACIÓN ANEXO B

Data File C:\CHEM32\1\DATA\2012KW16\157270001.D  
Sample Name: 20328ME 10331

*Uk 27.4.11*

```
=====
Acq. Operator   :                               Seq. Line :   34
Acq. Instrument : GCFID1                       Location  : Vial 51
Injection Date  : 4/18/2012 5:56:56 PM          Inj       :    1
                                                Inj Volume: 1 µl

Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\PAHK.M
Last changed    : 11/18/2011 7:48:55 AM
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\PAHK.M
Last changed    : 4/27/2012 11:33:15 AM
                  (modified after loading)
Method Info     : pahk
Sample Info     : Oleic acid (methylert)
=====
```



### Area Percent Report

```
=====
Sorted By      :      Retention Time
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
=====
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	16.470	1	VV	695.51563	369.42099	1.000e2

Totals :                      695.51563   369.42099

\*\*\* End of Report \*\*\*

*[Handwritten signature]*

**Figura B.1 (continuación) Certificado de estándar de ácido oleico**



## CONTINUACIÓN ANEXO B

### Certificate of Analysis

Dr. Ehrenstorfer

#### Product Identification

14635400 Linoleic acid  
 CA cis-9,cis-12-Octadecadienoic acid  
 IUPAC cis,cis-9,12-Octadecadienoic acid  
 Formula C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>  
 Mol.Weight 280.46  
 CAS No. 60-33-3

#### Reference Materials for Residue Analysis

Expiry Date 21.02.2013  
 Lot Number 00706  
 Store at 4 °C ±4 °C

Please note: The expiry date is valid under recommended storage conditions only.

<b>Toxicological Data</b> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> </div> <p>R Code 38          S Code 22-25          LD50 (Rats female/male in mg/kg) N/A</p>	<b>Physical Data</b> <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 33%;">Phase liquid</td> <td style="width: 33%;">Vapour pressure N/A at °C</td> </tr> <tr> <td>Color colourless</td> <td>Solubility in water N/A g/l at °C</td> </tr> <tr> <td>Melt. Range</td> <td>Boiling Range (lit.)</td> </tr> </table>	Phase liquid	Vapour pressure N/A at °C	Color colourless	Solubility in water N/A g/l at °C	Melt. Range	Boiling Range (lit.)
Phase liquid	Vapour pressure N/A at °C						
Color colourless	Solubility in water N/A g/l at °C						
Melt. Range	Boiling Range (lit.)						
<b>Analytical Data</b> <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;">           Detection: GC/FID            Column: DB-5, 30 m, ID 0.25 mm            Inj.-Vol.: 1,00 µl            Flow: 1,0 ml/min            Ret.-Time: 13,87 min.         </td> <td style="width: 50%;">           Method Details:            Injector: 320° C            Start Temperature: 120° C for 4 min            End Temperature: 320° C for 3 min            Gradient: 15° C/min         </td> </tr> </table>		Detection: GC/FID Column: DB-5, 30 m, ID 0.25 mm Inj.-Vol.: 1,00 µl Flow: 1,0 ml/min Ret.-Time: 13,87 min.	Method Details: Injector: 320° C Start Temperature: 120° C for 4 min End Temperature: 320° C for 3 min Gradient: 15° C/min				
Detection: GC/FID Column: DB-5, 30 m, ID 0.25 mm Inj.-Vol.: 1,00 µl Flow: 1,0 ml/min Ret.-Time: 13,87 min.	Method Details: Injector: 320° C Start Temperature: 120° C for 4 min End Temperature: 320° C for 3 min Gradient: 15° C/min						
Identity: RT Comment: GC after methylation by diazomethane. Purity was confirmed by external standard method.							
Water Content 0,1 %      Determined by Karl-Fischer Titration Det. Purity 97,0 %      Tolerance/Uncertainty +/- 0,5 % <p style="font-size: small;">The uncertainty/tolerance of this standard is calculated in accordance with the EURACHEM/CITAC Guide - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement - Second Edition. The uncertainty given is the expanded combined uncertainty and represents an estimated standard deviation equal to the positive square root of the total variance of the uncertainty of components. The expanded uncertainty is U which is Uc(y)*K, where K is the coverage factor at the 95% confidence level (K=2). The expanded uncertainty is based on the combination of uncertainties associated with each individual operation involved in the preparation of this product.</p>							

Certified on 21.02.2011  
 by Dipl.chem. J. Nöth

*WCH*

*U*



The Laboratory Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers is accredited by DGA as indicated by the Accreditation Certificate DGA-PL-4536.00 based on DIN EN ISO/IEC 17025:2005 for the weighing of amounts of substances for the preparation of standard solutions.

Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers · Bgm.-Schlosser-Str. 6 A · 86199 Augsburg · Germany  
 Phone +49 821 906080 Fax +49 821 9060888 info@analytical-standards.com  
 The warranty for this product is limited to the purchasing price of this product.



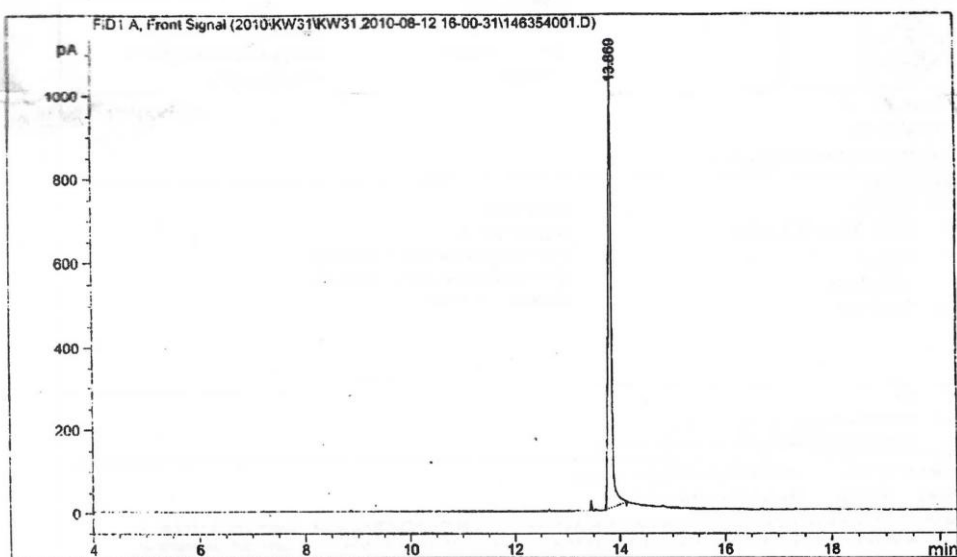
DGA-PL-4536.00

**Figura B.2 Certificado de estándar de ácido linoleico**

## CONTINUACIÓN ANEXO B

Data File C:\CHEM32\1\DATA\2010\KW31\KW31 2010-08-12 16-00-31\146354001.D  
Sample Name: 00706

```
=====
Acq. Operator   : Dr. Heidrich                      Seq. Line :    1
Acq. Instrument : GC/FID2                          Location  : Vial 3
Injection Date  : 8/12/2010 4:02:27 PM              Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 1 µl
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\DATA\KW31\KW31 2010-08-12 16-00-31\PAHK.M
Last changed    : 4/15/2010 3:42:49 PM by Dr. Heidrich
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\PAHK.M
Last changed    : 2/21/2011 11:42:27 AM by Dr. Heidrich
                  (modified after loading)
Method Info     : pahk
Sample Info      : Linoleic acid
=====
```



### Area Percent Report

```
=====
Sorted By      : Signal
Multiplier:    : 1.0000
Dilution:      : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
=====
```

Signal 1: FID1 A, Front Signal

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	13.869	BB	0.0566	4703.28613	1063.92529	1.000e2

Totals : 4703.28613 1063.92529

*NSH*

Figura B.2 (continuación) Certificado de estándar de ácido linoleico

## CONTINUACIÓN ANEXO B

### Certificate of Analysis

Dr. Ehrenstorfer

Reference Materials for  
Residue Analysis

#### Product Identification

14635600 Linolenic acid

CA cis,cis,cis-9,12,15-Octadecatrienoic acid

IUPAC 9,12,15-Octadecatrienoic acid

Formula C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>

Mol.Weight 278.44

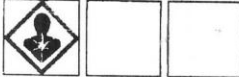
CAS No. 463-40-1

Expiry Date 21.07.2012

Lot Number 10506

Store at -20 °C ± 4 °C

Please note: The expiry date is valid under recommended storage conditions only.

<b>Toxicological Data</b>  R-Code 36/37/38 S-Code 22-25 LD50 (Rats female/male in mg/kg) N/A	<b>Physical Data</b> Phase liquid Color yellowish Melt. Range Vapour pressure NA at °C Solubility in water NA g/l at °C Boiling Range (lit.)
<b>Analytical Data</b> Detection: GC/MSD Column: DB-5, 30 m, ID 0.25 mm Inj.-Vol.: 1,00 µl Flow: 1,0 ml/min Ret.-Time: 14,12 min. Method Details: Injector: 320° C Start Temperature: 120° C for 4 min End Temperature: 320° C for 5 min Gradient: 15° C/min	
Identify: MS, RT Comment:	
Water Content Determined by Karl-Fischer Titration Det. Purity 99,0 % Tolerance/Uncertainty +/- 1,0 % <p style="font-size: small;">The uncertainty/tolerance of this standard is calculated in accordance with the EURACHEM/CITAC Guide - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement - Second Edition. The uncertainty given is the expanded combined uncertainty and represents an estimated standard deviation equal to the positive square root of the total variance of the uncertainty of components. The expanded uncertainty is U which is Uc(y)*K, where K is the coverage factor at the 95% confidence level (K=2). The expanded uncertainty is based on the combination of uncertainties associated with each individual operation involved in the preparation of this product.</p>	

Certified on 21.07.2011

by Dr. J. Heidrich



The Laboratory Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers is accredited by DGA as indicated by the Accreditation Certificate DGA-PL-4536.00 based on DIN EN ISO/IEC 17025:2005 for the weighing of amounts of substances for the preparation of standard solutions.

Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers · Bgm.-Schlosser-Str. 6 A · 86199 Augsburg · Germany  
Phone +49 821 906080 Fax +49 821 9060888 info@analytical-standards.com  
The warranty for this product is limited to the purchasing price of this product.



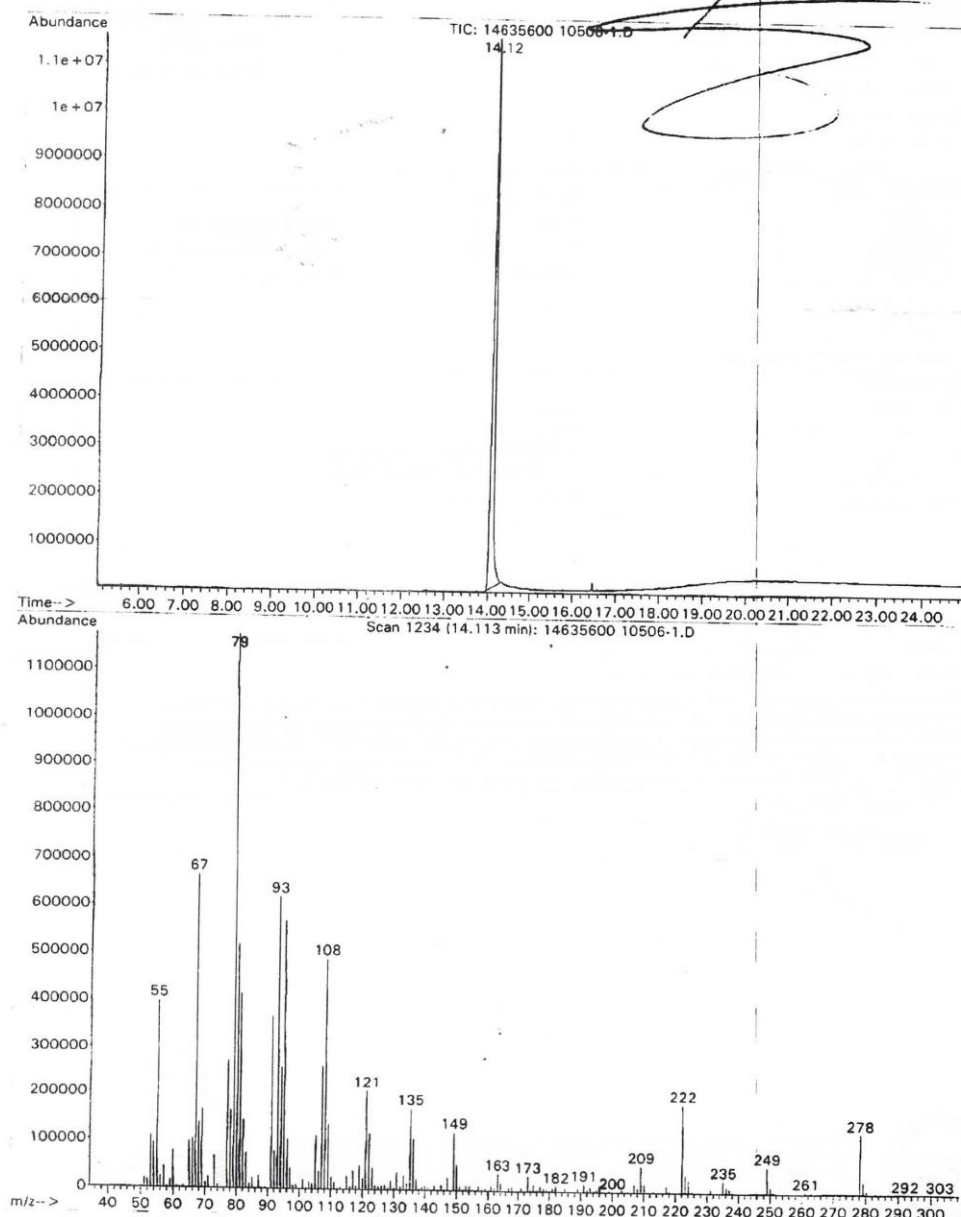
DGA-PL-4536.00

**Figura B.3 Certificado de estándar de ácido linolénico**

## CONTINUACIÓN ANEXO B

File : D:\2011\14635600 10506-1.D  
 Operator : JV  
 Acquired : 3 Jun 2011 16:00 using AcqMethod PAHK.M  
 Instrument : Instrument #1  
 Sample Name: Linolenic acid, pahk  
 Misc Info :  
 Vial Number: 2

*Handwritten:*  
 V. G. 11



**Figura B.3 (continuación) Certificado de estándar de ácido linolénico**

## CONTINUACIÓN ANEXO B

### Certificate of Analysis

Dr. Ehrenstorfer

Reference Materials for  
Residue Analysis

#### Product Identification

13115000 Elaidic acid

CA trans-9-Octadecenoic acid

IUPAC trans-9-Octadecenoic acid

Formula C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>

Mol Weight 282.5

CAS No. 112-79-8

Expiry Date 20.03.2014

Lot Number 00118

Store at 4 °C ± 4 °C

Please note: The expiry date is valid under recommended storage conditions only.

<b>Toxicological Data</b> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 40px; margin: 2px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 40px; margin: 2px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 40px; margin: 2px;"></div> </div> <p>R Code</p> <p>S Code</p> <p>LD50 (Rats female/male in mg/kg) N/A</p>	<b>Physical Data</b> <p>Phase crystalline solid</p> <p>Color colourless</p> <p>Melt Range 44,3 °C</p> <p>Boiling Range (lit.)</p>
<b>Analytical Data</b> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>Detection: GC/FID</p> <p>Column: DB-5, 30 m, ID 0.25 mm</p> <p>Inj. Vol: 1,00 µl</p> <p>Flow: 1,0 ml/min</p> <p>Ret. Time: 21,30 min.</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>Method Details:</p> <p>Injector: 280° C</p> <p>Start Temperature: 60° C for 5 min</p> <p>End Temperature: 280° C for 6 min</p> <p>Gradient: 5° C/min</p> </div> </div>	
<p>Identity RT</p> <p>Comment</p>	
<p>Water Content 0,3 %      Determined by Karl-Fischer Titration</p> <p>Det. Purity 99,0 %      Tolerance/Uncertainty +/- 0.5 %</p> <p><small>The uncertainty/tolerance of this standard is calculated in accordance with the EURACHEM/CITAC Guide - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement - Second Edition. The uncertainty given is the expanded combined uncertainty and represents an estimated standard deviation equal to the positive square root of the total variance of the uncertainty of components. The expanded uncertainty is U which is U<sub>c(y)</sub>·K, where K is the coverage factor at the 95% confidence level (K=2). The expanded uncertainty is based on the combination of uncertainties associated with each individual operation involved in the preparation of this product.</small></p>	

Certified on 18.03.2010

by Dr. J. Heidrich



Labor Dr. Ehrenstorfer-Schäfers Bgm. Schlosser-Str. 6 A · 86199 Augsburg · Germany  
 Phone +49 821 906080 Fax +49 821 9060888 info@analytical-standards.com  
 The warranty for this product is limited to the purchasing price of this product.



**Figura B.4 Certificado de estándar de ácido eláidico**

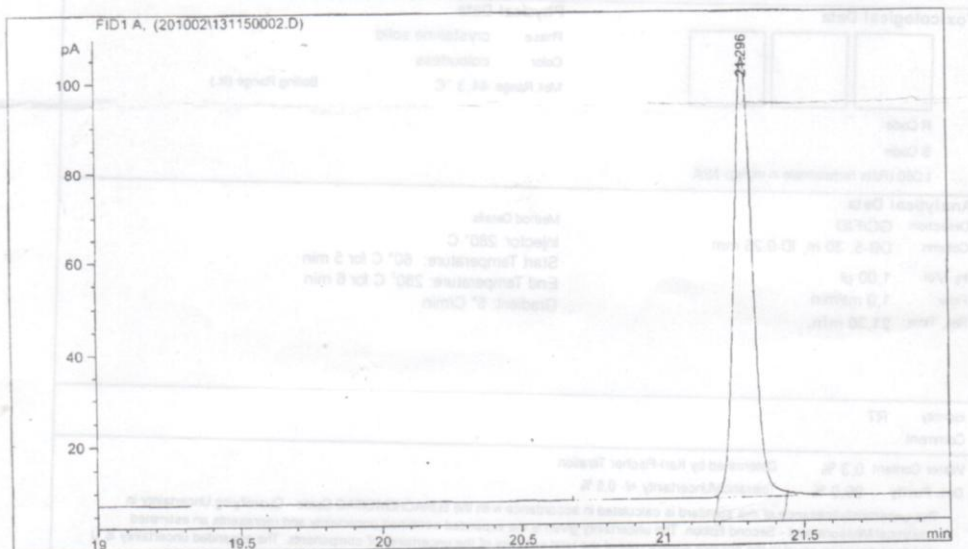


## CONTINUACIÓN ANEXO B

Data File C:\CHEM32\1\DATA\201002\131150002.D  
Sample Name: 00118 00215AL

```
=====
Acq. Operator   : KM                      Seq. Line :    7
Acq. Instrument : Instrument 1             Location  : Vial 5
Injection Date  : 27.02.2010 03:50:19      Inj       :    2
                                           Inj Volume: 1 µl
                                           Actual Inj Volume: 4 µl

Different Inj Volume from Sequence !
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\METHODS\PAHK.M
Last changed    : 26.08.2009 08:52:20 by KM
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\PES.M
Last changed    : 10.03.2010 09:49:24 by KM
                (modified after loading)
Method Info     : pes
Sample Info     : Elaidic acid methylert
=====
```



### Area Percent Report

```
=====
Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
=====
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area %
1	21.296	VB	0.0717	447.50549	97.17206	1.000e2

Totals : 447.50549 97.17206

\*\*\* End of Report \*\*\*

**Figura B.4 (continuación) Certificado de estándar de ácido eláidico**



## Ensayo de aptitud IA0413

### Informe individual de resultados

Laboratorio: LASA  
Código: 200  
Analista: Gabriela Cabrera  
Matriz: Aceite vegetal  
Fecha de realización: Mayo de 2013

Valores asignados mediante análisis estadístico robusto (algoritmo A) descrito en el anexo C.1 de la norma ISO 13528:2005  
Estimación del desempeño corresponde al indicador "z-score"  
Número de participantes (p) =14

Analito	Unidades	$\bar{X}$	$\bar{\sigma}$	$\bar{\sigma}_{\%}$	$u_y$	$x_y$	$U_{lab}$	D	z	Desempeño
Acidez	g/100 g Ácido Oleico	0,045	0,010	21,7%	0,004	0,045	0,01	-0,001	-0,10	S
Ácido Linoléico	g/100 g como Metil Ester de Ácido Linoléico	42,4	3,7	8,7%	1,7	39,8	0,01	-2,6	-0,71	S
Ácido Oleico	g/100 g como Metil Ester de Ácido Oleico	25,7	3,4	13,2%	1,6	31,9	0,01	6,2	1,83	S
Ácido Palmítico	g/100 g como Metil Ester de Ácido Palmítico	15,1	2,4	15,9%	1,1	18,0	0,01	2,9	1,22	S
Densidad	g/mL a 20 °C	0,916	0,003	0,3%	0,001	0,919	0,01	0,003	0,97	S
Índice de peróxidos	mEq O <sub>2</sub> /kg	1,88	0,36	19,1%	0,14	2,35	0,05	0,47	1,31	S
Índice de saponificación	mg KOH/g	192,6	3,1	1,6%	1,5	189,2	0,05	-3,4	-1,11	S
Índice de yodo	g I <sub>2</sub> /100 g	115,1	1,4	1,2%	0,6	114,9	0,05	-0,2	-0,15	S

NR: No reporta / NE: Parámetro no evaluado

Elaboró,

Immyer Mauricio Caicedo  
Analista de proyectos  
Coordinador del ensayo de aptitud  
ginterlaboratorios@mollabs.com

Revisión y aprobación,

Eliana Paola Chavarro  
Coordinadora de Calidad  
validaciones@mollabs.com

## RESULTADOS DE LA INTERCOMPARACIÓN

## CONTINUACIÓN ANEXO C

Informe Individual Interlaboratorios IAC413-1  
Pág. 2 de 2



### Simbología,

$X$	Valor asignado
$\hat{\sigma}$	Desviación estándar robusta, para la evaluación del desempeño
$\hat{\sigma}_{\%}$	Desviación estándar relativa porcentual
$u_x$	Incertidumbre estándar del valor asignado
$x_i$	Valor reportado por el laboratorio
$U_{lab}$	Incertidumbre reportada por el laboratorio
$D$	Sesgo
$z$	Indicador del desempeño

### Interpretación del indicador z:

- Satisfactorio (S) para valores reportados dentro de dos desviaciones estándar
- Cuestionable (C) para valores reportados entre dos y tres desviaciones estándar
- No satisfactorio (I) para valores reportados más allá de las tres desviaciones estándar

**NOTA:** Si presenta alguna queja o reclamo en cuanto a la evaluación de su desempeño, puede presentar una apelación enviando su solicitud por correo electrónico a [interlaboratorios@mollabs.com](mailto:interlaboratorios@mollabs.com) a más tardar 30 días calendario después de recibir el informe individual.

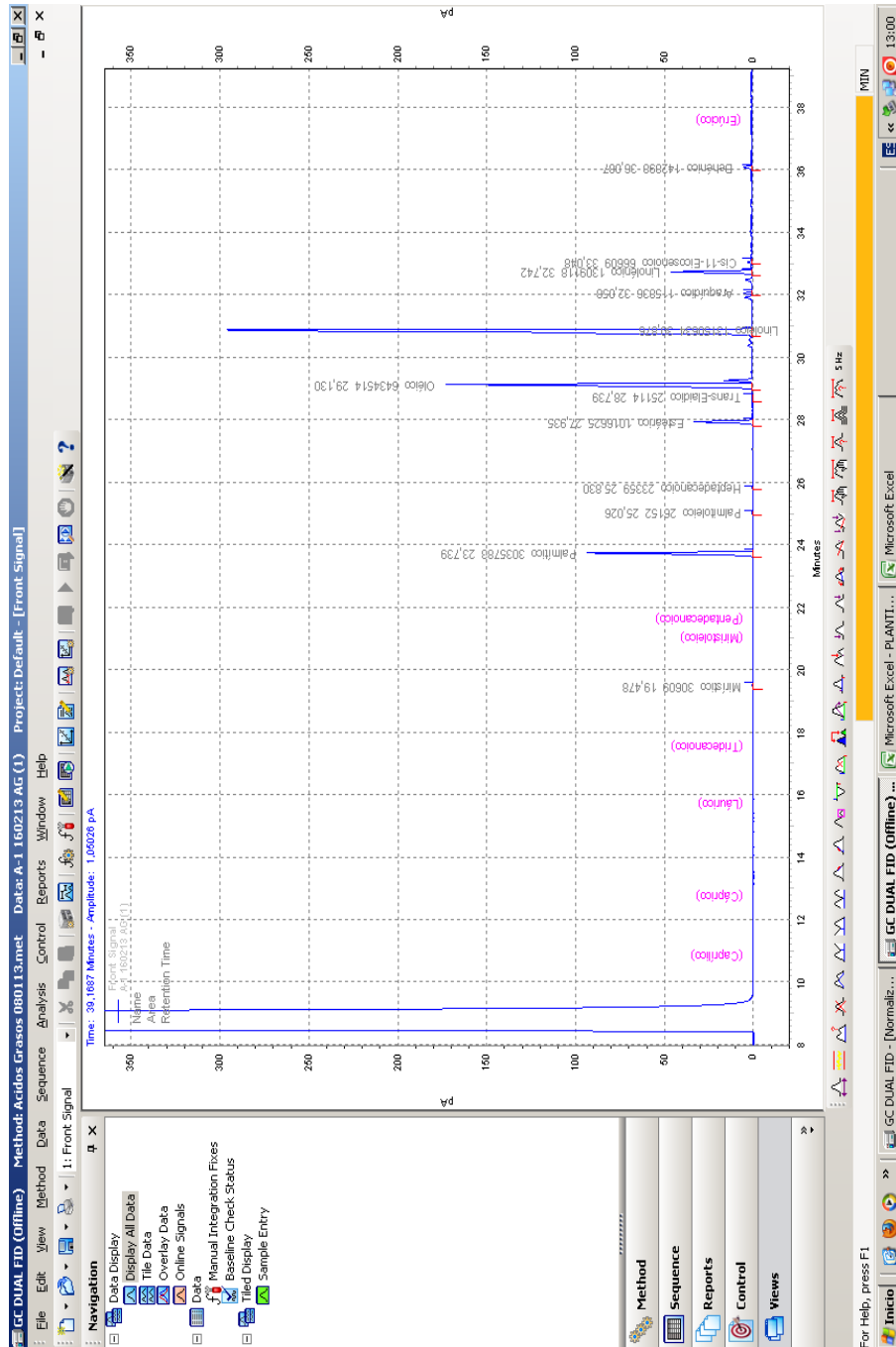
Página 2, Fin del Informe

Fecha de emisión: 8 de mayo de 2013



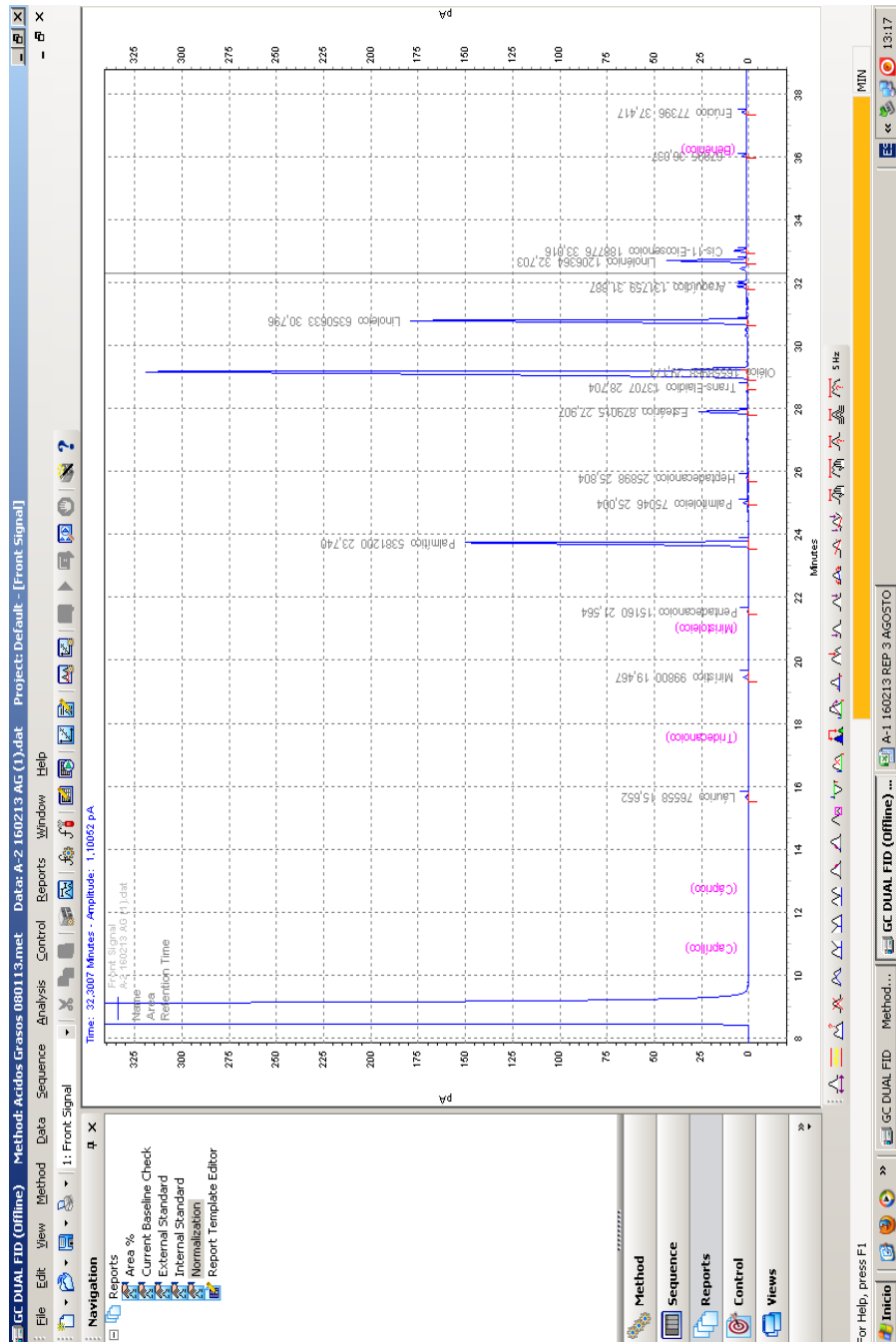
## ANEXO D

### EJEMPLO DE CROMATOGRAMA DEL ACEITE 1



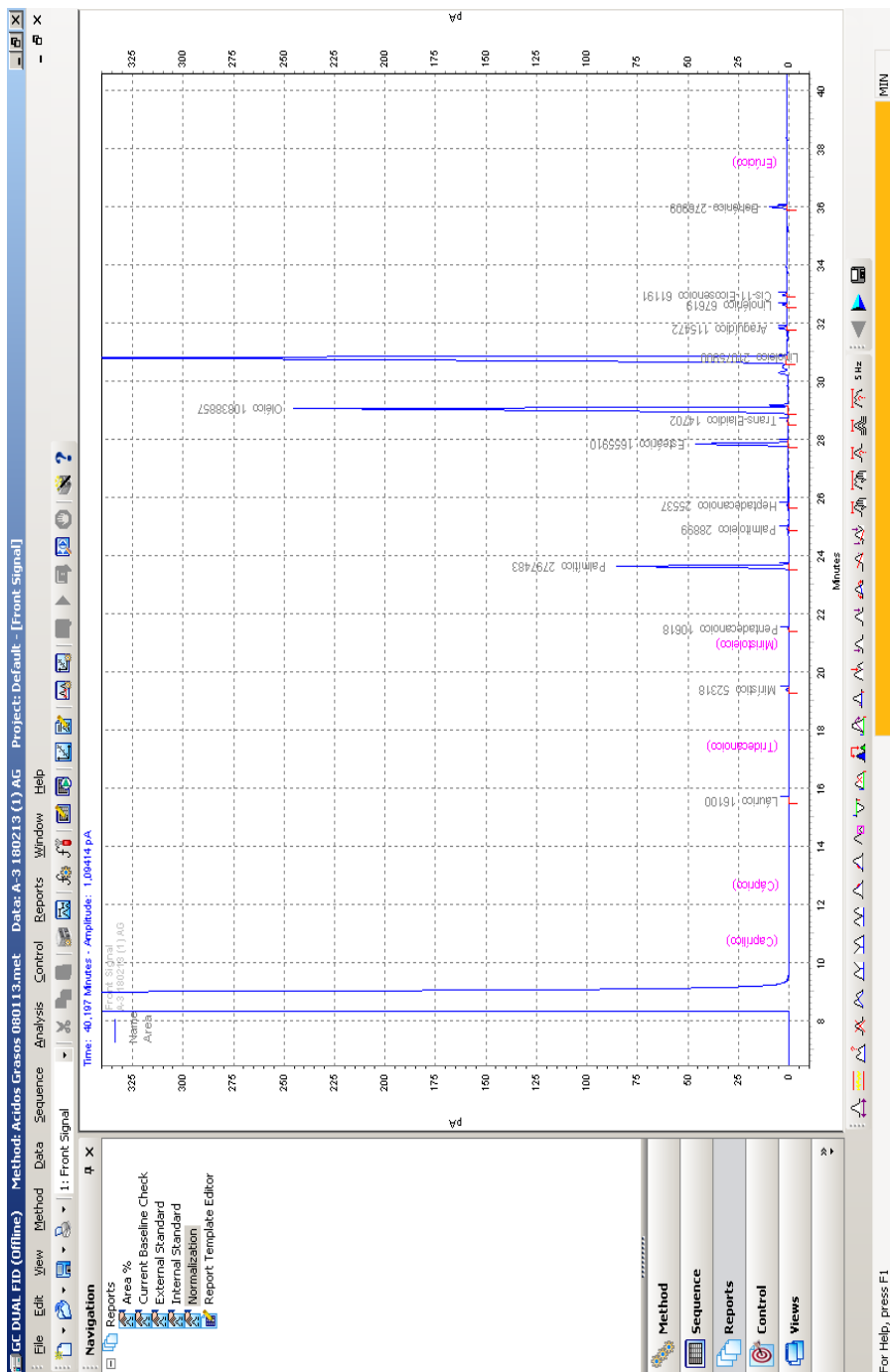
## ANEXO E

### EJEMPLO DE CROMATOGRAMA DEL ACEITE 2



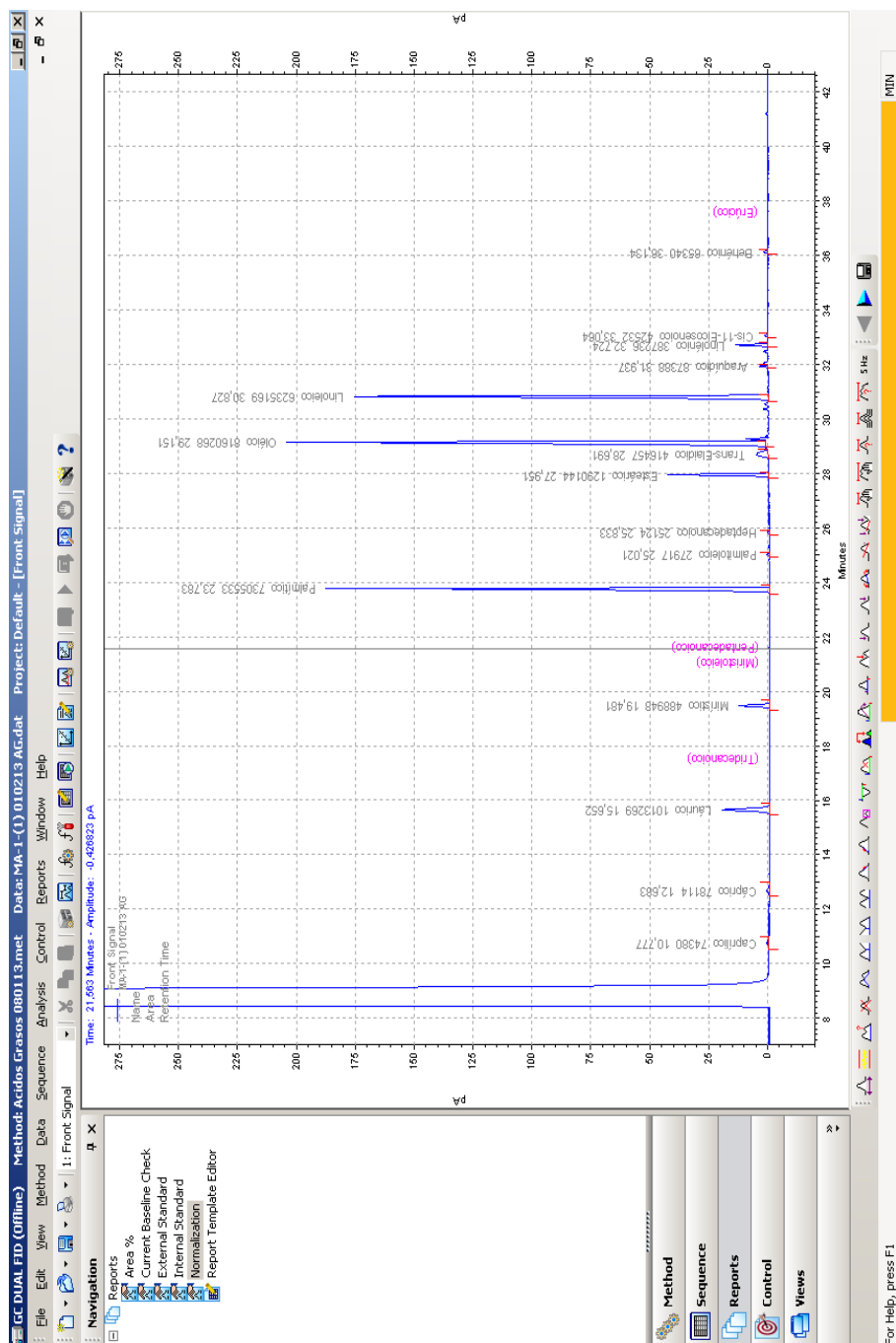
## ANEXO F

### EJEMPLO DE CROMATOGRAMA DEL ACEITE 3



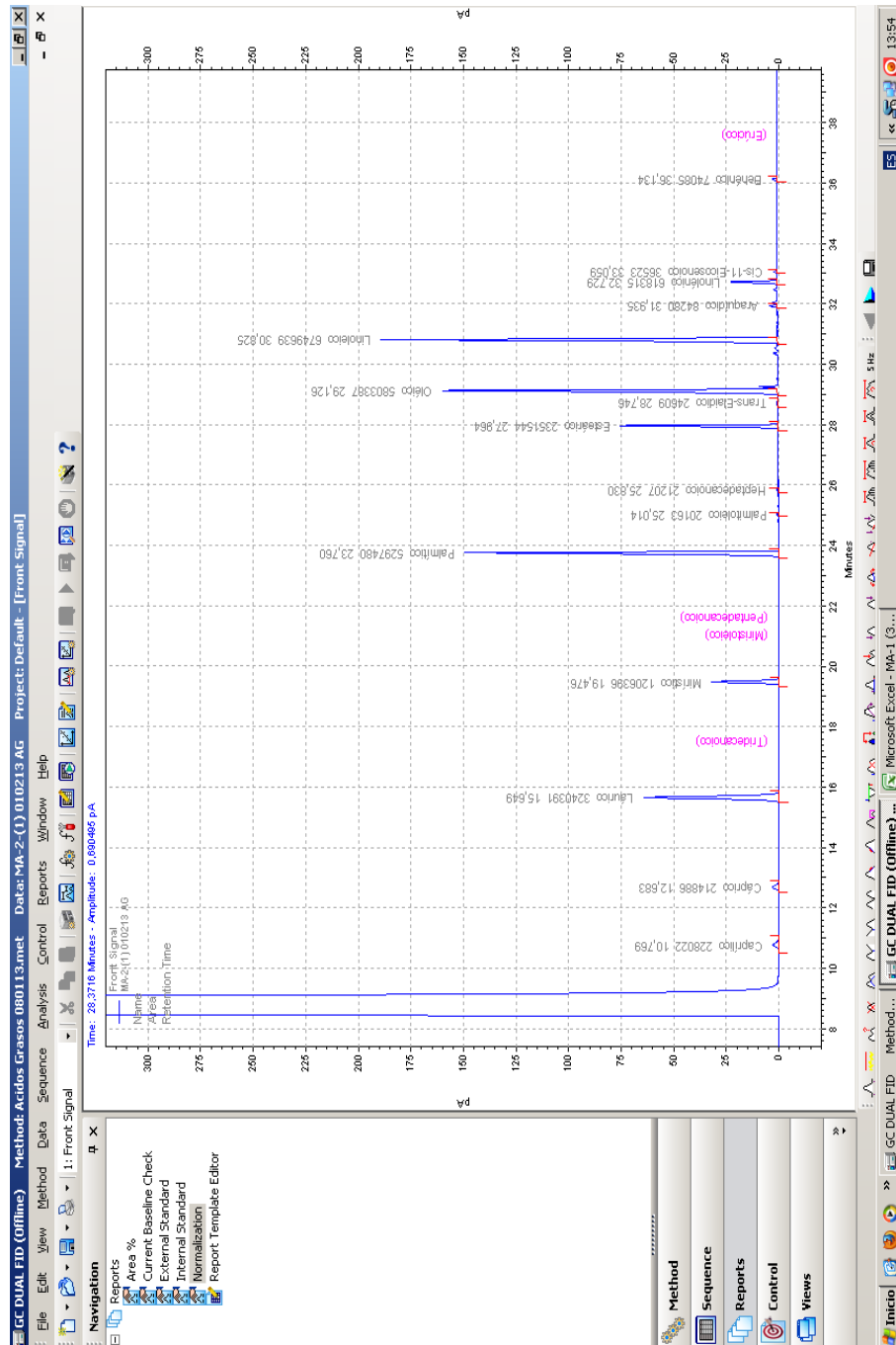
## ANEXO G

## EJEMPLO DE CROMATOGRAMA DE MARGARINA 1



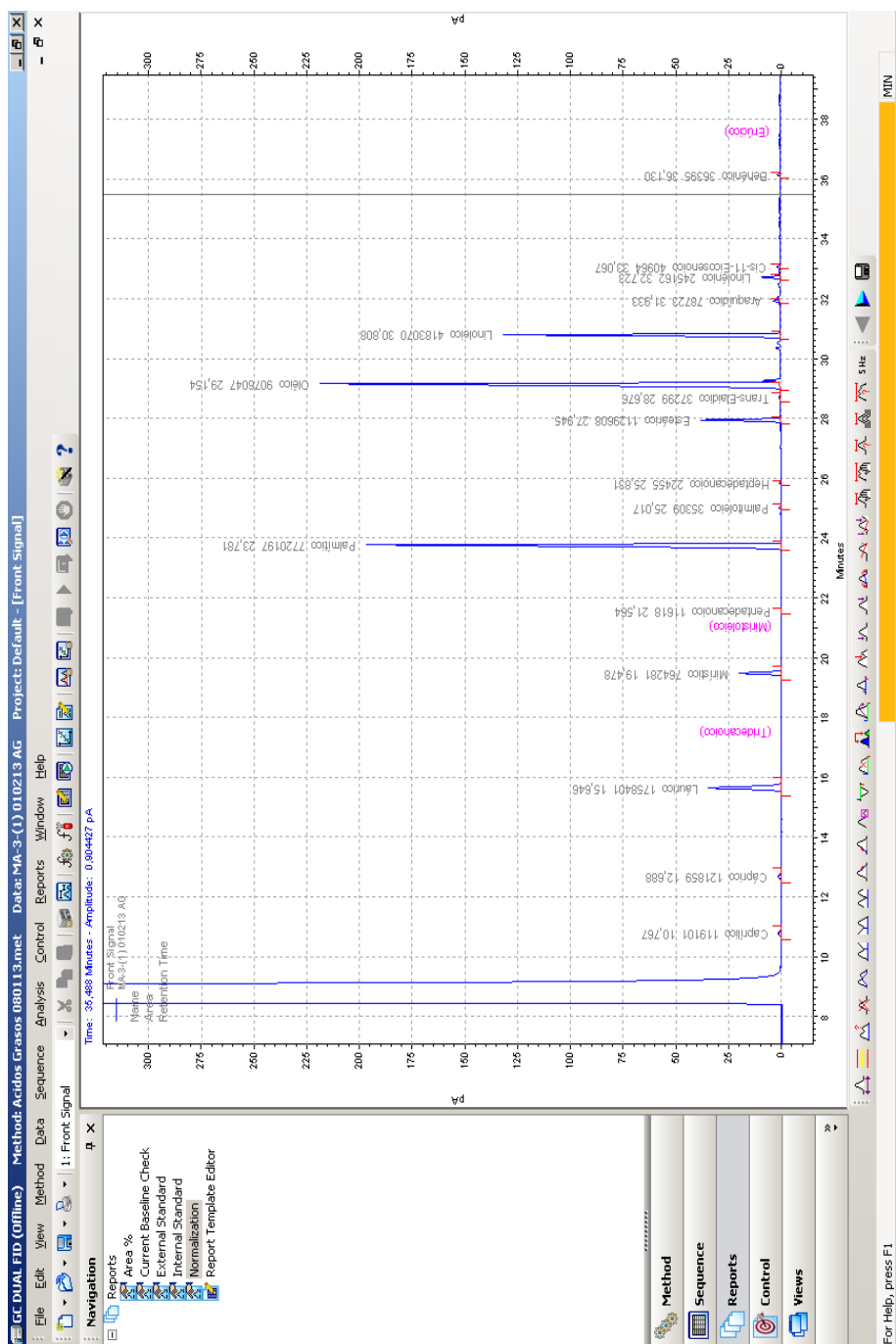
## ANEXO H

### EJEMPLO DE CROMATOGRAMA DE MARGARINA 2



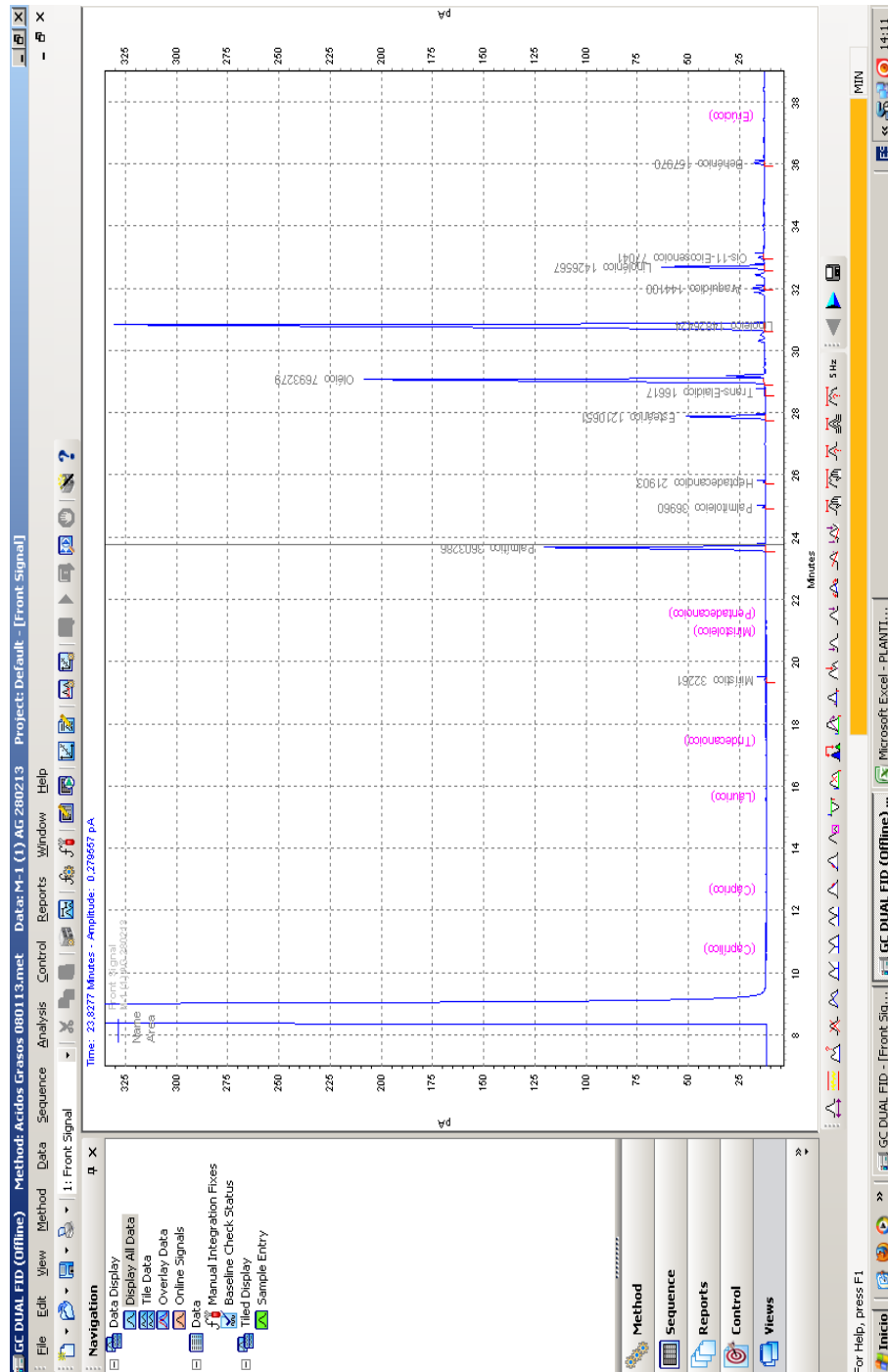
## ANEXO J

## EJEMPLO DE CROMATOGRAMA DE MARGARINA 3



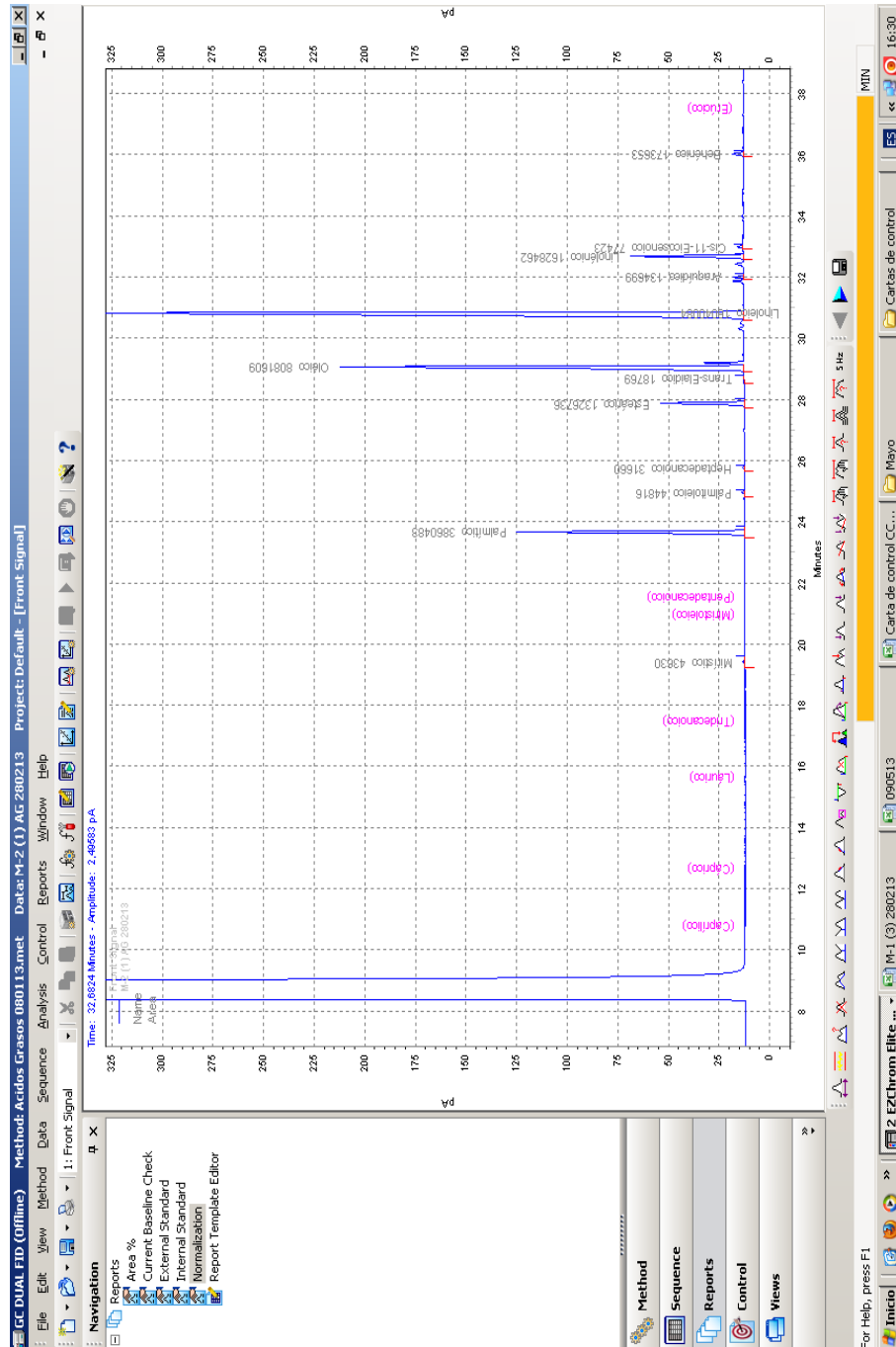
## ANEXO K

### EJEMPLO DE CROMATOGRAMA DE MAYONESA 1



## ANEXO L

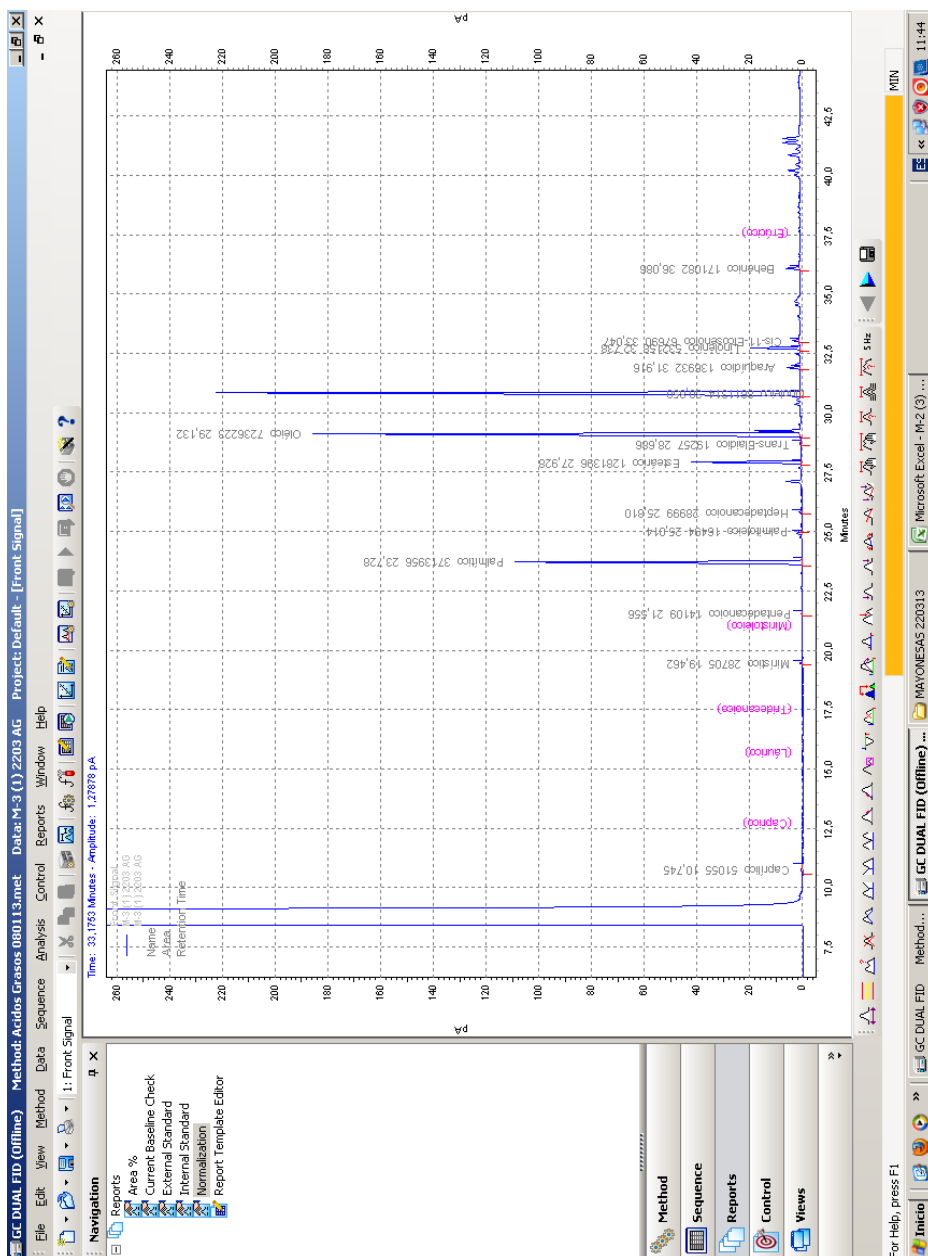
### EJEMPLO DE CROMATOGRAMA MAYONESESA 2





## ANEXO M

### EJEMPLO DE CROMATOGRAMA DE MAYONESA 3



## ANEXO N

### ÁREAS Y PESOS DE LAS MUESTRAS

**Tabla N.1 Áreas y pesos aceite 1**

MUESTRA	REPETICIÓN	PESO	ÁCIDO ELAÍDICO	ÁCIDO OLEICO	ÁCIDO LINOLEICO	ÁCIDO LINOLÉNICO
ACEITE 1	1	0,0204	25114	6434514	13150634	66609
	2	0,0201	20828	7060443	14445988	69064
	3	0,0245	26259	8904393	18204510	89632
	1	0,0239	24086	8733364	17905752	85286
	2	0,0204	22494	7391770	15164544	74104
	3	0,0217	21162	8047106	16496132	79956
	1	0,0215	21702	8012873	16423680	79784
	2	0,0200	17605	7460699	15348745	75673
	3	0,0221	22465	8547253	17671966	84037
	1	0,0238	23967	8514934	17366603	86604
	2	0,0234	21217	8556551	17474450	84639
	3	0,0203	20643	7518655	15435901	76208

**Tabla N.2 Áreas y pesos aceite 2**

MUESTRA	REPETICIÓN	PESO	ÁCIDO ELAÍDICO	ÁCIDO OLEICO	ÁCIDO LINOLEICO	ÁCIDO LINOLÉNICO
ACEITE 2	1	0,0216	13707	16558968	6350633	188776
	2	0,0213	14196	16128800	6187289	185422
	3	0,0223	12512	16779383	6436047	193020
	1	0,0212	11397	16325019	6283127	188512
	2	0,0204	11278	15658635	6025943	181424
	3	0,0210	11767	17423329	7115071	218078
	1	0,0237	13968	19351909	7169524	214624
	2	0,0212	12741	16738629	6447041	192398
	3	0,0203	11608	16268701	6253355	187763
	1	0,0217	13105	17419294	6486575	192471
	2	0,0212	11102	16235287	6263410	187013
	3	0,0221	12244	17559298	6518946	196737

## CONTINUACIÓN ANEXO N

**Tabla N.3 Áreas y pesos aceite 3**

MUESTRA	REPETICIÓN	PESO	ÁCIDO ELAÍDICO	ÁCIDO OLEICO	ÁCIDO LINOLEICO	ÁCIDO LINOLÉNICO
ACEITE 3	1	0,0235	16498	10085212	20447462	57865
	2	0,0232	16321	9812406	19907752	55331
	3	0,0258	14039	10843082	21998814	60446
	1	0,0242	14702	10838857	21075900	61191
	2	0,0202	11629	8810495	17922268	51751
	3	0,0256	14359	11273700	22761487	66765
	1	0,0204	14287	8749425	17798310	49728
	2	0,0220	13201	9571715	19461112	57043
	3	0,0226	12074	9906801	20124941	59388
	1	0,0209	12301	8896598	18097389	53854
	2	0,0214	12652	9250219	18825474	52358
	3	0,0243	14243	11012441	20895156	60269

**Tabla N.4 Áreas y pesos margarina 1**

MUESTRA	REPETICIÓN	PESO	ÁCIDO ELAÍDICO	ÁCIDO OLEICO	ÁCIDO LINOLEICO	ÁCIDO LINOLÉNICO
MARGARINA 1	1	0,0212	447550	7377997	5532790	42215
	2	0,0246	526149	8790719	6453073	42594
	3	0,0223	460311	8771301	6653438	44804
	1	0,0247	478197	9568430	7305209	50005
	2	0,0249	467191	9290393	7069479	47538
	3	0,0225	484306	9505296	7230547	49475
	1	0,0217	416457	8160268	6235169	42532
	2	0,0241	472757	9528337	7245460	48465
	3	0,0219	411180	8594930	6573204	32470
	1	0,0245	468188	9201122	6990724	47491
	2	0,0243	462508	8867232	6713813	47541
	3	0,0226	435423	8388832	6351926	43332

## CONTINUACIÓN ANEXO N

**Tabla N.5 Áreas y pesos margarina 2**

MUESTRA	REPETICIÓN	PESO	ÁCIDO ELAÍDICO	ÁCIDO OLEICO	ÁCIDO LINOLEICO	ÁCIDO LINOLÉNICO
MARGARINA 2	1	0,0228	22289	5252240	6113080	35683
	2	0,0221	23678	5292122	6155521	36098
	3	0,0228	19367	4832692	5666771	34615
	1	0,0233	24902	5926031	6900390	42916
	2	0,0244	25065	5451716	6348972	38227
	3	0,0235	20834	5477148	6377971	37368
	1	0,0248	24609	5803387	6749639	36523
	2	0,0224	22364	5289829	6116514	36990
	3	0,0217	21756	4983441	5774716	33849
	1	0,0238	22113	5408173	6293474	37599
	2	0,0211	19556	4965158	5762555	31972
	3	0,021	16580	5065390	5889665	32008

**Tabla N.6 Áreas y pesos margarina 3**

MUESTRA	REPETICIÓN	PESO	ÁCIDO ELAÍDICO	ÁCIDO OLEICO	ÁCIDO LINOLEICO	ÁCIDO LINOLÉNICO
MARGARINA 3	1	0,0246	38023	9816780	4510947	42246
	2	0,0213	29058	8765113	4095269	32672
	3	0,0228	31117	8656243	3970835	42464
	1	0,0233	40362	9864197	4530605	43746
	2	0,0244	33746	9863675	4526803	41279
	3	0,0235	36698	9932909	4565942	42589
	1	0,0219	37299	9076047	4183070	40964
	2	0,0221	32455	9199739	4221258	41769
	3	0,0215	31206	8774451	4016696	38893
	1	0,0217	35027	8964381	4111187	41810
	2	0,0214	31092	8758594	4016104	37529
	3	0,0253	35659	10683359	4902990	47554

## CONTINUACIÓN ANEXO N

**Tabla N.7 Áreas y pesos mayonesa 1**

MUESTRA	REPETICIÓN	PESO	ÁCIDO ELAÍDICO	ÁCIDO OLEICO	ÁCIDO LINOLEICO	ÁCIDO LINOLÉNICO
MAYONESA 1	1	0,0386	16617	7693279	14826424	77041
	2	0,0223	17575	9620844	18417658	92031
	3	0,0219	19798	8796508	16846466	87810
	1	0,0191	16709	7952581	14794903	76435
	2	0,0213	16990	9068214	15673180	89323
	3	0,0203	19426	8871445	12456649	87989
	1	0,0198	16852	7461668	11991976	71321
	2	0,0193	18905	7645684	12567717	70779
	3	0,0197	18168	7776882	13455157	74832
	1	0,0172	16972	7218278	11799607	70595
	2	0,0249	18719	8858141	16617692	88086
	3	0,0231	20815	7856037	16975496	76932

**Tabla N.8 Áreas y pesos mayonesa 2**

MUESTRA	REPETICIÓN	PESO	ÁCIDO ELAÍDICO	ÁCIDO OLEICO	ÁCIDO LINOLEICO	ÁCIDO LINOLÉNICO
MAYONESA 2	1	0,0218	18769	8081609	16040084	77423
	2	0,0225	20184	8469159	16919192	80331
	3	0,0231	18017	8499551	17019880	83029
	1	0,0208	17665	7303698	14311503	67258
	2	0,0223	19875	7209507	15838752	65683
	3	0,0175	16656	6317511	12413321	56564
	1	0,0236	17968	8244045	14355643	76420
	2	0,0255	17136	8992341	18861783	85540
	3	0,0203	20118	7436155	14248714	70630
	1	0,0156	14944	5573394	10927307	44514
	2	0,0154	14461	5910528	10465615	50949
	3	0,0151	14305	5508309	10665340	45897

## CONTINUACIÓN ANEXO N

**Tabla N.9 Áreas y pesos mayonesa 3**

MUESTRA	REPETICIÓN	PESO	ÁCIDO ELAÍDICO	ÁCIDO OLEICO	ÁCIDO LINOLEICO	ÁCIDO LINOLÉNICO
MAYONESA 3	1	0,0219	18621	8221281	12172072	79439
	2	0,0229	17829	8551310	12795787	82758
	3	0,0165	13585	6149870	8556477	46098
	1	0,0154	13257	7236223	8611314	67690
	2	0,0198	18103	7364452	10925570	70523
	3	0,0199	18107	7364452	10935572	70521
	1	0,0167	10426	6656244	9147838	63290
	2	0,0171	14388	6536886	8957303	60821
	3	0,0207	18298	7410054	11564207	66705
	1	0,018	15532	6961926	10064536	66229
	2	0,0204	16681	7227368	9618752	69795
	3	0,0199	18291	7084591	9579236	66322

## ANEXO P



**P.1 Extractor Soxhlet**



**P.2 Cromatógrafo de gases**

## ANEXO Q

### TABLAS DE ÁCIDOS GRASOS PRESENTES EN ACEITES CODEX STAN 210-1999

Página 5 de 17

CODEX STAN 210-1999

**Cuadro 1: Gamas de composición de ácidos grasos de aceites vegetales crudos determinados mediante CGL de muestras auténticas<sup>1</sup> (expresadas en porcentaje del contenido total de ácidos grasos) (véase Sección 3.1 de la Norma)**

Ácidos grasos	Aceite de maní	Aceite de babassú	Aceite de Coco	Aceite de semilla de algodón	Aceite de pepitas de uva	Aceite de maíz	Aceite de semilla de mostaza	Aceite de palma	Aceite de almendra de palma	Óleína de palma <sup>2</sup>	Óleína de almendra de palma <sup>2</sup>	Estearina de almendra de palma <sup>2</sup>
C6:0	ND	ND	ND-0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND-0.8	ND	ND-0.7	ND-0.2
C8:0	ND	2.6-7.3	4.6-10.0	ND	ND	ND	ND	ND	2.4-6.2	ND	2.9-6.3	1.3-3.0
C10:0	ND	1.2-7.6	5.0-8.0	ND	ND	ND	ND	ND	2.6-5.0	ND	2.7-4.5	2.4-3.3
C12:0	ND-0.1	40.0-55.0	45.1-53.2	ND-0.2	ND	ND-0.3	ND	ND-0.5	45.0-55.0	0.1-0.5	39.7-47.0	52.0-59.7
C14:0	ND-0.1	11.0-27.0	16.8-21.0	0.6-1.0	ND-0.3	ND-0.3	ND-1.0	0.5-2.0	14.0-18.0	0.5-1.5	11.5-15.5	20.0-25.0
C16:0	8.0-14.0	5.2-11.0	7.5-10.2	21.4-26.4	5.5-11.0	8.6-16.5	0.5-4.5	39.3-47.5	6.5-10.0	38.0-43.5	6.2-10.6	6.7-10.0
C16:1	ND-0.2	ND	ND	ND-1.2	ND-1.2	ND-0.5	ND-0.5	ND-0.6	ND-0.2	ND-0.6	ND-0.1	ND
C17:0	ND-0.1	ND	ND	ND-0.1	ND-0.2	ND-0.1	ND	ND-0.2	ND	ND-0.2	ND	ND
C17:1	ND-0.1	ND	ND	ND-0.1	ND-0.1	ND-0.1	ND	ND	ND	ND-0.1	ND	ND
C18:0	1.0-4.5	1.8-7.4	2.0-4.0	2.1-3.3	3.0-6.5	ND-3.3	0.5-2.0	3.5- 6.0	1.0-3.0	3.5- 5.0	1.7-3.0	1.0-3.0
C18:1	35.0-69	9.0-20.0	5.0-10.0	14.7-21.7	12.0-28.0	20.0-42.2	8.0-23.0	36.0-44.0	12.0-19.0	39.8-46.0	14.4-24.6	4.1-8.0
C18:2	12.0-43.0	1.4-6.6	1.0-2.5	46.7-58.2	58.0-78.0	34.0-65.6	10.0-24.0	9.0-12.0	1.0-3.5	10.0-13.5	2.4-4.3	0.5-1.5
C18:3	ND-0.3	ND	ND-0.2	ND-0.4	ND-1.0	ND-2.0	6.0-18.0	ND-0.5	ND-0.2	ND-0.6	ND-0.3	ND-0.1
C20:0	1.0-2.0	ND	ND-0.2	0.2-0.5	ND-1.0	0.3-1.0	ND-1.5	ND-1.0	ND-0.2	ND-0.6	ND-0.5	ND-0.5
C20:1	0.7-1.7	ND	ND-0.2	ND-0.1	ND-0.3	0.2-0.6	5.0-13.0	ND-0.4	ND-0.2	ND-0.4	ND-0.2	ND-0.1
C20:2	ND	ND	ND	ND-0.1	ND	ND-0.1	ND-1.0	ND	ND	ND	ND	ND
C22:0	1.5-4.5	ND	ND	ND-0.6	ND-0.5	ND-0.5	0.2-2.5	ND-0.2	ND-0.2	ND-0.2	ND	ND
C22:1	ND-0.3	ND	ND	ND-0.3	ND-0.3	ND-0.3	22.0-50.0	ND	ND	ND	ND	ND
C22:2	ND	ND	ND	ND-0.1	ND	ND	ND-1.0	ND	ND	ND	ND	ND
C24:0	0.5-2.5	ND	ND	ND-0.1	ND-0.4	ND-0.5	ND-0.5	ND	ND	ND	ND	ND
C24:1	ND-0.3	ND	ND	ND	ND	ND	0.5-2.5	ND	ND	ND	ND	ND

ND - no detectable, definido como 0.05%.

<sup>1</sup> Datos de las especies incluidas en la Sección 2.

<sup>2</sup> Productos obtenidos por el fraccionamiento del aceite de palma.

CONTINUACIÓN ANEXO Q



**ANEXO  
R**

**FACTO  
R DE  
CONVE  
RSIÓN  
DE  
ÉSTERE  
S  
METÍLI  
COS A  
ÁCIDOS  
GRASO  
S Y  
TRIGLI**

Cuadro 1: Gammas de composición de ácidos grasos de aceites vegetales crudos determinados mediante CGL de muestras auténticas<sup>1</sup> (expresadas en porcentaje del contenido total de ácidos grasos) (véase Sección 3.1 de la Norma) (Cont.)

Ácidos grasos	Estearina de palma <sup>1</sup>	Super-oleína de palma <sup>1</sup>	Acetate de colza	Acetate de colza (bajo contenido de ácido erúico)	Acetate de salvado de arroz (aceite de arroz)	Acetate de cartamo	Acetate de cartamo (ácido oleico alto)	Acetate de sésamo	Acetate de soja	Acetate de girasol
C6:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C10:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C12:0	0.1-0.5	0.1-0.5	ND	ND	ND-0.2	ND	ND-0.2	ND	ND-0.1	ND-0.1
C14:0	1.0-2.0	0.5-1.5	ND-0.2	ND-0.2	ND-1.0	ND-0.2	ND-0.2	ND-0.1	ND-0.2	ND-0.2
C16:0	48.0-74.0	30.0-39.0	1.5-6.0	2.5-7.0	14-23	5.3-8.0	3.6-6.0	7.9-12.0	8.0-13.5	5.0-7.6
C16:1	ND-0.2	ND-0.5	ND-3.0	ND-0.6	ND-0.5	ND-0.2	ND-0.2	ND-0.2	ND-0.2	ND-0.3
C17:0	ND-0.2	ND-0.1	ND-0.1	ND-0.3	ND	ND-0.1	ND-0.1	ND-0.2	ND-0.1	ND-0.2
C17:1	ND-0.1	ND	ND-0.1	ND-0.3	ND	ND-0.1	ND-0.1	ND-0.1	ND-0.1	ND-0.1
C18:0	3.9-6.0	2.8-4.5	0.5-3.1	0.8-3.0	0.9-4.0	1.9-2.9	1.5-2.4	4.5-6.7	2.0-5.4	2.7-6.5
C18:1	15.5-36.0	43.0-49.5	8.0-60.0	51.0-70.0	38-48	8.4-21.3	70.0-83.7	34.4-45.5	17-30	14.0-39.4
C18:2	3.0-10.0	10.5-15.0	11.0-23.0	15.0-30.0	21-42	67.8-83.2	9.0-19.9	36.9-47.9	48.0-59.0	48.3-74.0
C18:3	ND-0.5	0.2-1.0	5.0-13.0	5.0-14.0	0.1-2.9	ND-0.1	ND-1.2	0.2-1.0	4.5-11.0	ND-0.3
C20:0	ND-1.0	ND-0.4	ND-3.0	0.2-1.2	ND-0.9	0.2-0.4	0.3-0.6	0.3-0.7	0.1-0.6	0.1-0.5
C20:1	ND-0.4	ND-0.2	3.0-15.0	0.1-4.3	ND-0.8	0.1-0.3	0.1-0.5	ND-0.3	ND-0.5	ND-0.3
C20:2	ND	ND	ND-1.0	ND-0.1	ND	ND	ND	ND	ND-0.1	ND
C22:0	ND-0.2	ND-0.2	ND-2.0	ND-0.6	ND-1.0	ND-1.0	ND-0.4	ND-1.1	ND-0.7	0.3-1.5
C22:1	ND	ND	> 2.0-60.0	ND-2.0	ND	ND-1.8	ND-0.3	ND	ND-0.3	ND-0.3
C22:2	ND	ND	ND-2.0	ND-0.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND-0.3
C24:0	ND	ND	ND-2.0	ND-0.3	ND-0.6	ND-0.2	ND-0.3	ND-0.3	ND-0.5	ND-0.5
C24:1	ND	ND	ND-3.0	ND-0.4	ND	ND-0.2	ND-0.3	ND	ND	ND

ND - no detectable, definido como 0.05%.

<sup>1</sup> Datos de las especies incluidas en la Sección 2.

<sup>2</sup> Productos obtenidos por el fraccionamiento del aceite de palma.

**TABLA 1.-** Factor de conversión de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) a ácidos grasos y equivalentes a Triacilglicerol (TAG)

Ácido Graso	F <sub>FAX</sub> <sup>a</sup>	F <sub>TAGx</sub> <sup>b</sup>	Ácido Graso	F <sub>FAX</sub> <sup>a</sup>	F <sub>TAGx</sub> <sup>b</sup>
4:0	0,862 7	0,986 8	18:4	0,951 7	0,995 4
6:0	0,892 3	0,989 7	20:0	0,957 0	0,995 9
8:0	0,911 4	0,991 5	20:1	0,956 8	0,995 9
10:0	0,914 7	0,992 8	20:2	0,956 5	0,995 8
11:0	0,930 0	0,993 3	20:3	0,956 2	0,995 8
12:0	0,934 6	0,993 7	20:4	0,956 0	0,995 8
13:0	0,938 6	0,994 1	20:5	0,955 7	0,995 8
14:0	0,942 1	0,994 5	21:0	0,958 8	0,996 1
14:1	0,941 7	0,994 4	22:0	0,960 4	0,996 2
15:0	0,945 3	0,994 8	22:1	0,960 2	0,996 2
15:1	0,944 9	0,994 7	22:2	0,960 0	0,996 2
16:0	0,948 1	0,995 0	22:3	0,959 8	0,996 1
16:1	0,947 7	0,995 0	22:4	0,959 5	0,996 1
17:0	0,950 7	0,995 3	22:5	0,959 3	0,996 1
17:1	0,950 3	0,995 2	22:6	0,959 0	0,996 1
18:0	0,953 0	0,995 5	23:0	0,962 0	0,996 4
18:1	0,952 7	0,995 5	24:0	0,963 3	0,996 5
18:2	0,952 4	0,995 4	24:1	0,963 2	0,996 5
18:3	0,952 0	0,995 4			

NOTAS:

<sup>a</sup>F<sub>FAX</sub> Factor de conversión para convertir de FAMEs a su correspondiente ácido graso

<sup>b</sup>F<sub>TAGx</sub> Factor de conversión para convertir FAMEs al correspondiente equivalente de TAG

FUENTE: Norma Mexicana, NMX-F-089-SCFI-2008 y Norma AOAC 996.06